

Die Bedeutung der zirkulierenden Sézary-Zellen

(quantitative und morphometrische Analysen)

Wilhelm Stolz

Diss
München
1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der
Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. O. Braun-Falco

Die Bedeutung der zirkulierenden Sézary-Zellen
(quantitative und morphometrische Analysen)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wilhelm Stolz

aus

Untermeitingen

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Ch. Schmoeckel
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. O. Braun-Falco
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 29.01.1985

Meinen Eltern in
Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1.0 <u>EINLEITUNG</u>	1
2.0 <u>LITERATURÜBERSICHT</u>	4
2.1 Das Sézary-Syndrom	4
2.1.1 Geschichte	4
2.1.2 Klinische Befunde des Sézary-Syndroms	5
2.1.3 Laborbefunde beim Sézary-Syndrom	9
2.1.4 Die Epidemiologie des Sézary-Syndroms	10
2.1.5 Klinische Differentialdiagnose	11
2.2 Mycosis fungoides	12
2.2.1 Geschichte	12
2.2.2 Klinische Befunde der Mycosis fungoides	14
2.2.2.1 Das prämykose Stadium	14
2.2.2.2 Das Plaque-Stadium	15
2.2.2.3 Das Tumor-Stadium	15
2.2.3 Laborwerte bei der Mycosis fungoides	16
2.2.4 Epidemiologie der Mycosis fungoides	17
2.3 Parapsoriasis en plaques	19
2.3.1 Geschichte	19
2.3.2 Klinik und Histologie	20
2.3.3 Verlauf der Parapsoriasis en plaques	21
2.4 Die Sézary-Zelle	22
2.4.1 Die Morphologie der Sézary-Zelle	22
2.4.1.1 Die Sézary-Zelle im Blutaussstrich	22
2.4.1.2 Die Sézary-Zelle im Semidünnschnitt	29
2.4.1.3 Die Sézary-Zelle in der Elektronenmikroskopie	32
2.4.1.3.1 Allgemeine Ultrastruktur	32
2.4.1.3.2 Spezielle Ultrastruktur	42
2.4.1.3.3 Die dreidimensionale Morphologie	45
2.4.1.3.4 Unterscheidungsmerkmale zwischen Sézary-Zellen und Monozyten	45
2.4.1.3.5 Subpopulationen und Varianten der Sézary-Zellen	46
2.4.1.3.6 Ultrastrukturelle Klassifikation der Sézary-Zellen durch den nuclear contour index (NCI)	47

	Seite
2.4.2 Vorkommen der Sézary-Zelle	49
2.4.2.1 Sézary-Syndrom	49
2.4.2.2 Mycosis fungoides	49
2.4.2.3 Sonstige Vorkommen der Sézary-Zellen	50
2.4.3 Bezeichnung der Sézary-Zellen	54
2.4.4 Zirkulierende Sézary-Zellen	55
2.5 Histopathologie der Haut beim Sézary-Syndrom	62
2.6 Methoden zur Früherkennung von kutanen T-Zell-Lymphomen	64
2.7 Die Histopathologie des Lymphknotens bei kutanen T-Zell-Lymphomen	66
2.8 Immunologische Befunde über die Sézary-Zellen	68
2.9 Nosologie	74
2.10 Zusammenstellung der für diese Untersuchung gestellten Aufgaben	75
3.0 <u>MATERIAL UND METHODEN</u>	77
3.1 Patientengut	77
3.2 Methoden	78
3.2.1 Herstellen von Semi- und Ultradünnschnitten der mononukleären Blutzellfraktion	78
3.2.2 Untersuchung und Auswertung der Semidünnschnitte	79
3.2.3 Untersuchung und Auswertung der Ultradünnschnitte	83
3.2.4 Untersuchung und Auswertung der Blutausstriche	84
3.2.5 Vergleich der Untersuchungsmethoden	85
4.0 <u>ERGEBNISSE</u>	86
4.1 Klinische, laborchemische und anamnestische Daten der Patienten	86
4.1.1 Die Sézary-Syndrom-Patienten	86
4.1.2 Die Pre-Sézary-Syndrom-Patienten	95
4.1.3 Die Mycosis fungoides-Patienten	96
4.1.4 Die Kontrollen	99
4.2 Ultrastrukturelle Morphologie der Sézary-Zelle	103

	Seite
4.3 Die Größe der Sézary-Zellen im Ultradünnschnitt	104
4.3.1 Die Größe der lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen	104
4.3.2 Die Klassifizierung der Sézary-Zellen nach ihrer Größe	104
4.3.3 Die Größe der Sézary-Zellen beim Sézary-Syndrom	106
4.3.4 Die Größe der Sézary-Zellen bei den Pre-Sézary-Syndromen	113
4.3.5 Die Größe der Sézary-Zellen bei der Mycosis fungoides	113
4.3.6 Die Größe der Sézary-Zellen bei gutartigen Hauterkrankungen, beim angioimmunoblastischen Lymphom sowie bei gesunden Normalpersonen	115
4.3.7 Größenvergleich zwischen den Sézary-Zellen und den lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen	116
4.4 Die Genauigkeit der Zellauswertung	117
4.5 Ergebnisse der Blutausstrichuntersuchung	119
4.6 Ergebnisse der Semidünnschnittuntersuchung	119
4.7 Die Ergebnisse der morphometrischen Untersuchungen	122
4.7.1 Die Reproduzierbarkeit des NCI	122
4.7.2 Die Resultate bei den verschiedenen Krankheitsgruppen	122
4.7.3 Die morphometrische Untersuchung der Haut- und Lymphknotenbiopsie bei einem T-immunoblastischen Lymphom	133
4.7.4 Ultrastrukturelle morphometrische Unterscheidungskriterien zwischen gutartigen Hauterkrankungen und Sézary-Syndromen	134
4.8 Vergleich zwischen den angewandten Untersuchungsmethoden	139
4.8.1 Allgemeine Überlegungen	139
4.8.2 Vergleich zwischen Blutausstrich- und Ultradünnschnittuntersuchung	139
4.8.3 Vergleich zwischen Semi- und Ultradünnschnittuntersuchung	139
4.8.4 Vergleich zwischen Ultradünnschnitt- mit und Ultradünnschnittuntersuchung ohne Morphometrie	141

	Seite
5.0 <u>DISKUSSION</u>	147
5.1 Einleitung	147
5.2 Klinische, anamnestische und laborchemische Daten der kutanen T-Zell-Lymphom-Patienten	148
5.3 Die Charakteristik der Sézary-Zelle	152
5.4 Die Größe der Sézary-Zellen im Ultradünnschnitt	154
5.4.1 Die Sézary-Zelle beim Sézary-Syndrom	154
5.4.2 Die Sézary-Zelle bei der Mycosis fungoides	160
5.4.3 Die Sézary-Zelle bei benignen Hauterkrankungen	161
5.4.4 Die Sézary-Zelle im Vergleich mit lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen	161
5.4.5 Zusammenfassung	162
5.5 Die Leistungsfähigkeit der angewandten Untersuchungsmethoden im Vergleich mit der morphometrischen Analyse des Ultradünnschnitts	162
5.5.1 Die Blutausstrichuntersuchung	162
5.5.2 Die Semidünnschnittuntersuchung	163
5.5.3 Die Ultradünnschnittuntersuchung ohne Morphometrie	165
5.5.4 Zusammenfassung	166
5.6 Das Vorkommen der Sézary-Zellen im Ultradünnschnitt bei den einzelnen untersuchten Krankheitsgruppen	166
5.6.1 Sézary-Syndrom	166
5.6.2 Pre- Sézary-Syndrom	169
5.6.3 Mycosis fungoides	171
5.6.4 Benigne Hauterkrankungen	173
5.6.5 Angioimmunoblastisches Lymphom	174
5.6.6 Gesunde Normalpersonen	175
5.7 Differenzierungskriterien aufgrund der lymphoiden Blutzellen zwischen dem Sézary-Syndrom und gutartigen Hauterkrankungen im Ultradünnschnitt	177
5.7.1 Der Prozentsatz der normalen Lymphozyten, Übergangslymphozyten und Sézary-Zellen	177

	Seite
5.7.2 Die Zahl der Sézary-Zellen pro μ l Blut	178
5.7.3 Die 25. und 70. Perzentilen der NCI- Verteilung	179
5.7.4 Der Mittelwert der NCI- Verteilung	179
5.7.5 Der größte NCI- Wert unter den lymphoiden Blut- zellen eines Patienten	180
5.7.6 Zusammenfassung	181
5.8 Die Leistungsfähigkeit der Semidünnschnitt- untersuchung bei der Abgrenzung gutartiger Hauterkrankungen von den Sézary-Syndromen	181
5.9 Die Größe der zu untersuchenden Zellzahl bei der Differenzierung zwischen benignen Hauter- krankungen und den Sézary-Syndromen	184
6.0 <u>SCHLUSSFOLGERUNGEN AUS DEN ERGEBNISSEN DIESER STUDIE FÜR DIE BEDEUTUNG DER ZIRKULIERENDEN SÉZARY-ZELLEN</u>	186
7.0 <u>ZUSAMMENFASSENDE BEANTWORTUNG DER ZUR DISKUSSION GESTELLTEN FRAGEN</u>	188
8.0 <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	191
9.0 <u>NACHTRAG</u>	192
10.0 <u>LITERATURÜBERSICHT</u>	195

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

SS:	Sézary-Syndrom
MF:	Mycosis fungoides
P en P:	Parapsoriasis en plaques
CTCL:	kutanes T-Zell-Lymphom
SC:	Sézary-Zelle
ÜL:	Übergangslimphozyt
NL:	normaler Lymphozyt
P ₂₅ :	25. Perzentile
P ₇₀ :	70. Perzentile
NCI _{max} :	größter NCI- Wert der Blutprobe
NCI:	nuclear contour index

VERZEICHNIS DER TABELLEN

	Seite
Tab. I: Klassifikation kutaner Non-Hodgkin-Lymphome	3
Tab. II: Lymphoproliferative Erkrankungen vom T-Zell-Typ	3
Tab. III: Häufigkeit der klinischen Symptome des Sézary-Syndroms anhand von 57 Fällen	6
Tab. IV: Vorkommen der Sézary-Zelle außerhalb der Mycosis fungoides und des Sézary-Syndroms	50
Tab. V: Die Zahl der zirkulierenden Sézary-Zellen bei verschiedenen Erkrankungen in der Literatur	56
Tab. VI: Klassifikation der Lymphknotenbefallmuster bei kutanen T-Zell-Lymphomen	67
Tab. VII: Immunzytologische Untersuchungen der Sézary-Zellen beim Sézary-Syndrom	70
Tab. VIII: Zusammenhang zwischen der Zahl und Tiefe der Kerneinbuchungen mit dem NCI bei 155 Zellen eines SS	80
Tab. IX: Stadieneinteilung bei der Mycosis fungoides bzw. Sézary-Syndrom	88
Tab. X: Anamnestische und klinische Angaben sowie Stadieneinteilung bei acht Sézary-Syndromen und drei Pre-Sézary-Syndromen	89
Tab. XI: Therapie der Sézary-Syndrom- und Pre-Sézary-Syndrom-Patienten vor der Blutuntersuchung und weiterer Verlauf	92
Tab. XII: Labordaten der 8 Sézary-Syndrom- und 3 Pre-Sézary-Syndrom-Patienten zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung	93
Tab. XIII: Anamnestische und klinische Angaben sowie Stadieneinteilung, Therapie vor und Verlauf nach der Blutuntersuchung bei 7 Mycosis fungoides-Patienten	97
Tab. XIV: Labordaten bei 7 Mycosis fungoides-Patienten zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung	98
Tab. XV: Alter und Geschlecht, Diagnose und Therapie der Kontrollen	100
Tab. XVI: Labordaten der Kontrollen zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung	102

Tab. XVII:	Vergleich der Prozentsätze der drei Zelltypen bei Charakterisierung durch den NCI oder allein durch Betrachten des Grades der Kerneinfaltung im Ultra- dünnchnitt oder im Semidünnchnitt	105
Tab. XVIII:	Die Größenverteilung der Sézary-Zellen bei den untersuchten Krankheitsgruppen	107
Tab. XIX:	Mittelwerte und Standardabweichungen für den Durchmesser der Sézary-Zellen bei den 12 Blutproben der Sézary-Syndrome	110
Tab. XX:	Ergebnis der einfachen Varianzanalyse für die Zellgröße bei den 12 Sézary-Syndromen	110
Tab. XXI:	Das 95%-Vertrauensintervall in Abhängigkeit von der Anzahl der gemessenen Zellen und des Erwartungswertes	118
Tab. XXII:	Die Prozentsätze der normalen Lymphozyten, der Übergangslymphozyten und der Sézary-Zellen unter den lymphoiden Zellen im Blutaussstrich, Semidünnchnitt- und Ultradünnchnitt für alle untersuchten Proben	123
Tab. XXIII:	Zahl der gemessenen Zellen, größter NCI, Mittelwert und 25. bzw. 70. Perzentile der NCI- Verteilung sowie die absolute Zahl der Sézary-Zellen pro μ l bei allen Untersuchungen	131
Tab. XXIV:	Überprüfung der Reproduzierbarkeit des NCI durch fünfmaliges Messen der gleichen Zellen	133
Tab. XXV:	Die Größe der publizierten zirkulierenden Sézary-Zellen im Blutaussstrich und in der Elektronenmikroskopie	155
Tab. XXVI:	Diagnostische Kriterien für das Sézary-Syndrom und ihre Anwendung	194

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

	Sei
Abb. 1: Sézary-Zellen im Blutausstrich	24
Abb. 2: Sézary-Zelle im Blutausstrich	24
Abb. 3: Semidünnschnitt eines buffy coats eines Sézary-Syndroms	30
Abb. 4: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer zirkulierenden Sézary-Zelle (NCI = 7,8)	30
Abb. 5: Ultrastrukturelle Aufnahme einer zirkulierenden Sézary-Zelle bei einem Sézary-Syndrom (NCI = 11,2)	34
Abb. 6: Zirkulierende Sézary-Zelle bei einer erythrodermatischen Kontaktdermatitis (NCI = 13)	34
Abb. 7: Zirkulierende Sézary-Zelle bei einer erythrodermatischen Kontaktdermatitis (NCI = 7,8)	36
Abb. 8: Lymphoide Zellen und Monozyten im Ultradünnschnitt	36
Abb. 9: Elektronenmikroskopische Aufnahme zirkulierender lymphoider Zellen beim Sézary-Syndrom	38
Abb. 10: Ultrastruktur eines normalen Lymphozyten (NCI = 3,7)	38
Abb. 11: Ultrastruktur eines Übergangslymphozyten (NCI = 5,3)	40
Abb. 12: Die mononukleäre Blutzellfraktion am Ende der Ficoll-Isopaque-Zentrifugation	40
Abb. 13: Zelleinteilung bei Aufspaltung des Kerns in zwei Segmente im Semidünnschnitt	82
Abb. 14: Graphische Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Größe der Sézary-Zellen im Ultradünnschnitt bei den 12 Blutproben der Sézary-Syndrome	1
Abb. 15: Graphische Darstellung der Größenverteilung der Sézary-Zellen bei den einzelnen Krankheitsgruppen und der lymphoiden Zellen dreier gesunder Normalpersonen im Ultradünnschnitt	1
Abb. 16: Scatterdiagramm für die Prozentsätze der Sézary-Zellen und der Übergangslymphozyten im Semidünnschnitt	1

Abb. 17:	Charakteristische Histogramme der NCI- Verteilung	
a)	Sézary-Syndrom	125
b)	Sézary-Syndrom	125
c)	Mycosis fungoides Plaque-Stadium	126
d)	Mycosis fungoides Plaque-Stadium kurz vor Übergang ins Tumor-Stadium	126
e)	Erythrodermatische Kontaktdermatitis	127
f)	Erythrodermatische atopische Dermatitis	127
g)	Angioimmunoblastisches Lymphom	128
h)	Gesunde Normalperson	128
i)	Pre-Sézary-Syndrom (KBI)	129
j)	Pre-Sézary-Syndrom (fünf Monate später als KBI)	129
Abb. 18:	Scatterdiagramm für die Prozentsätze der Sézary-Zellen und der Übergangslimphozyten (ermittelt durch die NCI-Analyse)	135
Abb. 19:	Scatterdiagramm für die 25. und 70. Perzentile bei den einzelnen Blutproben	138
Abb. 20:	Scatterdiagramm für die Zahl der Sézary-Zellen unter den lymphoiden Blutzellen im Blutausschnitt und bei der morphometrischen Analyse der Ultradünnschnitte bei einigen Blutproben	140
Abb. 21:	Scatterdiagramm und Regressionsgerade für die Zahl der Sézary-Zellen im Semidünnschnitt und bei der morphometrischen Analyse der Ultradünnschnitte für alle untersuchten Blutproben	142
Abb. 22:	Scatterdiagramm und Regressionsgerade für die Zahl der Übergangslimphozyten unter den lymphoiden Blutzellen im Semidünnschnitt und bei der morphometrischen Analyse der Ultradünnschnitte	143
Abb. 23:	Scatterdiagramm und Regressionsgerade für die Zahl der normalen Lymphozyten unter den lymphoiden Blutzellen im Semidünnschnitt und bei der morphometrischen Analyse der Ultradünnschnitte	144
Abb. 24:	Scatterdiagramm und Regressionsgerade für die Zahl der Sézary-Zellen, die sowohl mit als auch ohne morphometrische Analyse im Ultradünnschnitt bei einigen Blutproben bestimmt wurde	146

1.0 EINLEITUNG

1928 erschien in der in Berlin verlegten Zeitschrift "Archiv für Dermatologie und Syphilographie" von Rosenthal ein Beitrag über die "Erythrodermia leucaemica" (141). Wahrscheinlich das gleiche Krankheitsbild stellten etwa 20 Jahre später, am 13.02.1938, die französischen Dermatologen Sézary und Bouvrain (155) der französischen Gesellschaft der Dermatologie unter dem Titel "Érythrodermie avec présence de cellules monstrueuses dans le derme et le sang" bei einer 58jährigen Frau vor.

Sézarys großes Verdienst bestand in der genauen Beschreibung der dabei vorhandenen atypischen mononukleären Blutzellen, die heute nach ihm als Sézary-Zellen (SC) bezeichnet werden.

Alderson et al. (3) und Main et al. (118) prägten für das Krankheitsbild die heute übliche Bezeichnung: Sézary-Syndrom (SS).

Spätestens als Clendenning et al. (35) bei sechs von ihren 30 Mycosis fungoides-Patienten mehr als 5 % Sézary-Zellen (SC) im peripheren Blut fanden, wird über die Beziehung des Sézary-Syndroms (SS) zur Mycosis fungoides (MF) diskutiert. Während einige Autoren das Sézary-Syndrom als leukämische Variante der Mycosis fungoides bezeichnen, sehen andere hier zwei verschiedene Einheiten vorliegen.

Unabhängig von dem ungeklärten Verhältnis dieser beiden Krankheiten werden sie heute zu den kutanen Non-Hodgkin-Lymphomen vom niedrigen Malignitätsgrad gezählt. Durch genaue histochemische und immunologische Studien konnten die Mycosis fungoides und das Sézary-Syndrom sogar als kutane T-Zell-Lymphome (CTCL) identifiziert werden (14,29,31,52, 91,116,146,198).

Die Tabelle I zeigt die Klassifikation der kutanen Non-Hodgkin-Lymphome in Anlehnung an die Kiel-Klassifikation (nach (100)), Tabelle II die lymphoproliferativen Erkrankungen vom T-Zell-Typ (nach (100)).

Die Bezeichnung kutane T-Zell-Lymphome (CTCL) betont das gemeinsame Merkmal dieser Gruppe: die primäre Hautinfiltration der Zellen.

Nach Edelson (52) werden epidermotrope und nicht-epidermotrope Varianten der CTCL beobachtet. Obwohl viele CTCL epidermotrop beginnen und sich zu nicht-epidermotropen entwickeln, existieren auch primär nicht-epidermotrope CTCL. Beispiele für epidermotrope CTCL sind die Mycosis fungoides, das Sézary-Syndrom und die sehr seltene pagetoide Retikulose (Woringer-Kolopp) (31).

Burg und Braun-Falco (31) bezweifeln jedoch die Existenz von primär nicht-epidermotropen CTCL.

In dieser Arbeit beschäftigen wir uns vor allem mit den atypischen Blutzellen, die bei einer Variante der epidermotropen CTCL - dem Sézary-Syndrom - mitunter sehr zahlreich zu beobachten sind.

Zunächst wird das Sézary-Syndrom, die Mycosis fungoides und die von einigen Autoren als mögliche Vorstufe einer Mycosis fungoides angesehene Parapsoriasis en plaques näher beschrieben und dann auf die immunologischen und morphologischen Eigenschaften der Sézary-Zellen eingegangen. Dabei werden wir sehen, daß trotz ausgiebiger immunologischer Forschung einige morphologische und quantitative Aspekte der Sézary-Zellen noch ungeklärt sind.

Tabelle I: Klassifikation kutaner Non-Hodgkin-Lymphome
 (nach Kresbach und Kerl (100))

NIEDRIGER MALIGNITÄTSGRAD	HOHER MALIGNITÄTSGRAD
Mycosis fungoides	Immunoblastisches Lymphom
Sézary-Syndrom	Zentroblastisches Lymphom
Pagetoide Retikuloze	Lymphoblastische Lymphome
Chronische lymphatische Leukämie (T-Typ)	Burkitt-Lymphom
Chronische lymphatische Leukämie (B-Typ)	
Immunozytom	
Zentrozytisches Lymphom	
Zentroblastisch-zentro- zytisches Lymphom	
Unklassifizierbare Lymphome	

Tabelle II: Lymphoproliferative Erkrankungen vom T-Zell-Typ
 (nach Kresbach und Kerl (100))

Mycosis fungoides
Sézary-Syndrom
Pagetoide Retikuloze
(Lymphomatoide Papulose)
Chronische lymphatische Leukämie
(T-Typ)

T-Lymphoblastische Lymphome
T-Immunoblastisches Lymphom

2.0 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Das Sézary-Syndrom

2.1.1 Geschichte

Schon einen Monat nach seiner ersten Beobachtung konnte Sézary auf der Sitzung der französischen Gesellschaft der Dermatologie am 10. März 1938 eine 69jährige Patientin mit den gleichen Symptomen vorstellen. Er nannte jetzt das Krankheitsbild "Paramykosis hémotrope" (137).

Bereits 1937 diskutierten Montgomery und Watkins drei Fälle einer exfoliativen Dermatitis und einer leukämischen Retikuloendotheliosis als eine Monozytenleukämie. Einige ihrer Beschreibungen und Abbildungen der beobachteten Zellen ermöglichen nach Winkelmann (190) die Annahme, daß sie ebenfalls das SS gesehen hatten.

1939 veröffentlichte Baccaredda (4) das gleiche Krankheitsbild unter dem Titel "Retikulothistiocytosis cutanea hyperplastica benigna cum melanoderma". In seiner Arbeit weist er auf ähnliche Fälle hin, die Flarer bereits 1930 beobachtet hatte.

Seinen dritten Fall des neuen Krankheitsbildes, den Sézary 1942 sah, bezeichnete er jetzt als "Réticulose érythrodermique avec réticulémie".

1949 faßte Sézary (156) seine drei Fälle und Baccareddas Bericht unter dem Titel "Réticulose maligne leucémique à histiomonocytes monstrueux zusammen.

Da Knochenmark und Lymphknoten histologisch keine typischen Veränderungen aufwiesen, kam Sézary zu dem Schluß, daß die in der Blutbahn befindlichen mononukleären Elemente aus der Haut eingeschwemmte Retikulumzellen darstellen.

In britischen Fachzeitschriften erschienen in der Folgezeit weitere Beiträge zu diesem Thema von Alderson et al. (3) und Main et al. (118). Letztere stellten bereits erste zyto-

chemische Untersuchungen über die atypischen Zellelemente im Blut an und vermuteten schon ihre lymphoide Herkunft. Die erste amerikanische Beschreibung lieferten Taswell und Winkelmann 1961 (169). Sie konnten über sieben eigene Fälle berichten.

Die frühesten Beobachtungen im deutschen Sprachraum stammen von Korting und Nürnberger 1970 (99), Ebner et al. 1971 (48), Huhn et al. 1972 (78) und Weber et al. 1975 (186).

Sehr wichtige Fortschritte brachten die ultrastrukturellen Untersuchungen von Lutzner et al. (113, 114). Sie wiesen auf die cerebriformen Kerne der SC hin und konnten sie sowohl im Blut als auch in Hautinfiltraten des SS nachweisen. 1971 stellten sie (114) den SC ähnliche Zellen elektronenmikroskopisch in Hautinfiltraten der MF fest.

Aufgrund Lutzners großer Verdienste um die Erforschung der Morphologie der Sézary-Zelle werden ultrastrukturell dargestellte Sézary-Zellen auch als Lutzner-Zellen bezeichnet (107, 150).

Erst die Untersuchung des Medizinstudenten Crossen et al. (41) 1971 in Sydney bewiesen, daß die SC wie Lymphozyten durch Phythämagglutinin (PHA) stimulierbar sind und zytogenetische Abnormalitäten aufweisen. Die Stimulierbarkeit durch PHA war der erste wichtige Hinweis, daß die SC nicht - wie früher angenommen - vom retikuloendothelialen System, sondern vom lymphatischen System abstammen (91).

Kurz danach bewiesen 1973 Brouet et al. (19) und Broome et al. (18) durch ausgezeichnete immunologische und histochemische Studien die T-Zell-Natur der SC endgültig.

2.1.2 Klinische Befunde des Sézary-Syndroms

Die Symptomatik des SS wird durch die Symptomentrias

- a) Erythrodermie,
- b) Lymphadenopathie der hautnahen Lymphknoten und den
- c) Nachweis zirkulierender SC charakterisiert.

Tabelle III: Häufigkeit der klinischen Symptome des Sézary-Syndroms anhand von 57 Fällen (nach Huhn et al. (78), Winkelmann (189) und Hamminga et al. (70))

Hauptsymptome

Erythrodermie	100 %
Lymphadenopathie	100 %
Pruritus	100 %
Leukozyten	20.000/mm ³
Sézary-Zellen	~8.000/mm ³
Sézaryzytose im Blut (nach Winkelmann(189))	>13 %

Weitere Symptome

Ödeme (Beine, Gesicht)	72 %
Hepatomegalie	39 %
Knochenmarksinfiltration	16 %
Lymphknoten spezifisch befallen	18 %
Palmare-plantare Hyperkeratosen	40 %
Alopezie	40 %
Onychodystrophie	37 %
Hyperpigmentierungen	22 %
Exkoriationen	6 %

Nach Kerl (91) bietet anfangs der klinische Aspekt erythematöse-ödematöse, ekzematoide oder psoriasiforme Veränderungen von transitorischem Charakter, die zunächst meist im Gesicht bzw. an den Extremitäten beginnen. In diesem frühen Stadium läßt die Symptomatik auch an eine Kontaktdermatitis, ein Arzneimittlexanthem oder eine Psoriasis denken (189). Die Hauterscheinungen breiten sich meistens ziemlich rasch zu einer generalisierten Erythrodermie aus.

Die Erythrodermie kann aber auch durch vorausgehende über Wochen, Monate oder Jahre sich erstreckende, uncharakteristische ekzematöse oder psoriasiforme Hauterscheinungen eingeleitet werden (137).

Es handelt sich um eine exfoliative Erythrodermie mit lamellenlösen Schuppenauflagerungen, diffuser Infiltration, aber auch gelegentlicher Wulstbildung (Facies leontina) und Neigung zur Lichenifikation (91). Daneben finden sich meist trophische Störungen im Bereich der Haare und der Nägel (28). Dies führt dann meistens zur Alopezie und Onychodystrophie. Nicht selten beginnt das Krankheitsbild mit palmaren-plan-taren Hyperkeratosen (169); diese können sich aber auch während der Erythrodermie erst entwickeln.

Fast immer klagen die Patienten über einen hartnäckigen und mit Antihistaminika kaum zu beeinflussenden Juckreiz.

Taswell und Winkelmann (169) stellten bei 13 von 16 Patienten Pruritus als erstes Symptom fest.

Die Erythrodermie zeigt mitunter einen anthrazitähnlichen oder schokoladenbraunen Farbton. Als Ursache wurde in einem Fall (82) eine Hämosiderinablagerung und nicht wie üblich das Melanin beschrieben.

Die leicht bis mäßig ausgeprägten Ödeme befinden sich meistens an den Unterschenkeln und im Gesicht. Neben den Hautinfiltraten sind auch die Gesichtsoedeme für die charakteristische maskenhafte und leontine Facies verantwortlich. Bei massivem Befall der periorbitalen Region können sich auch eine Blepharitis, Konjunktivitis sowie ein Ektropion entwickeln.

Andere Hautläsionen wie Exkoriationen, sekundäre Pyodermien, Petechien, Teleangiektasien und die vor allem bei der MF beobachtete Mucinosi follicularis wurden beschrieben.

In der Regel sind die peripheren Lymphknoten mäßig vergrößert, meistens aber noch gegeneinander verschieblich

und nicht druckschmerzhaft (137). Die Achsel- und Leistenlymphknoten sind am ehesten betroffen.

Das Knochenmark bleibt bis in sehr späte Krankheitsstadien frei.

Zum Zeitpunkt der Diagnose ist der Allgemeinzustand in der Regel so gut, daß die Patienten trotz ihrer Erkrankung noch meistens ihren Beruf ausüben können.

Mitunter werden Schüttelfrost, Schweißausbrüche und Fieber mitgeteilt. Massive Diarrhoen als Folge einer gastrointestinalen Ausbreitung des SS wurden bis jetzt nur in einem Fall beschrieben (37). Unter Umständen kann auch eine Milzvergrößerung mit einer Lymphadenopathie bei nicht sehr typischen Hauteffloreszenzen zur Diagnose eines SS führen (109).

Nach Winkelmann (189) und Schein et al. (146) gibt es drei Entwicklungsmöglichkeiten des SS:

- a) Ein isolierten Haut-Plaque oder ein diffuses Erythem erscheint zuerst bei normalem Blutbild. Nach einer variablen Periode (1-5 Jahre) progrediert die Krankheit zu einer exfoliativen Erythrodermie mit leukämischem Blutbild (Nachweis von SC).
- b) Initial besteht schon eine exfoliative Erythrodermie mit leukämischem Blutbild. Auf erythrodermatischer Haut entwickeln sich dann Plaques und Tumoren; evtl. zeigt sich eine Hepatosplenomegalie.
- c) Anfangs entwickeln sich sofort Erythrodermie, Plaques und ein leukämisches Blutbild. Nach kurzer Therapie (bei Schein et al. (146) Methotrexat) verschwindet das leukämische Blutbild und die Krankheit verläuft wie die MF.

Eine seltene klinische Variante kann ein bullöses SS (200) darstellen, das schlaffe Blasen auf nicht-erythematösem Grund bei sonst typischem klinischem Bild zeigte.

Über eine Entwicklung des SS in ein Lymphom vom hohen Malignitätsgrad wurde wiederholt berichtet (92, 104). Winkelmann (189) beobachtete, daß unter 28 SS-Fällen vier Patienten an einer zweiten bösartigen Erkrankung litten. Im einzelnen entwickelte sich zwei bis acht Jahre nach dem SS ein Retikulumzellsarkom, ein Morbus Hodgkin, eine myelomonozytäre Leukämie und ein Lymphosarkom. Umgekehrt wurde 2 1/2 Jahre nach erfolgreicher Therapie eines Morbus Hodgkins die Entwicklung eines SS festgestellt (21).

2.1.3 Laborbefunde beim Sézary-Syndrom

Sehr wichtig für die Diagnose ist der Nachweis der Sézary-Zellen im Blut. Prinzipiell möglich ist dies auf vier Arten:

- a) Lichtmikroskopisch im Blutaussstrich;
- b) Lichtmikroskopisch im Semidünnschnitt der in Epon eingebetteten mononukleären Blutzellfraktion;
- c) Elektronenmikroskopisch in Dünnschnitten der in Epon eingebetteten mononukleären Blutzellfraktion;
- d) Elektronenmikroskopisch mit Hilfe eines speziellen morphometrischen Verfahrens;

Von den meisten Autoren wird eine Untersuchung des Blutaussstrichs als ausreichend angesehen.

Eine genaue Zusammenstellung über die berichteten Zahlen der zirkulierenden SC erfolgt in Abschnitt 2.4.4 Tabelle V.

Mehr als 10 % SC im panoptisch-gefärbten Blutaussstrich reichen für mehrere Autoren (31, 67, 133, 189) zur Diagnose eines SS beim Vorliegen der typischen Erythrodermie aus.

Die Gesamtzahl der Leukozyten ist im Durchschnitt erhöht ($\sim 20.000/\text{mm}^3$). Die Spannweite ist allerdings sehr groß:

Taswell und Winkelmann	1961 (169)	10.400 -	31.000,
Flandrin und Brouet	1974 (57)	3.000 -	76.900,
Lutzner et al.	1975 (116)	8.000 -	238.000,
Hamminga et al.	1979 (70)	6.100 -	51.000,
Kövary et al.	1979 (95)	5.600 -	98.900 und
Büchner und Winkelmann	1983 (22)	6.500 -	25.100/ mm^3 .

Der Prozentsatz aller lymphoiden Zellen (SC und normale Lymphozyten) ist gewöhnlich (aber nicht immer) hoch. Er erreicht mehr als 80 % der Leukozyten bei einigen Patienten (Flandrin und Brouet (57): 9 - 88 %, Hamminga et al. (70): 14 - 85 %). Demnach sind auch die absoluten Lymphozytenwerte meistens erhöht, obwohl auch manche Sézary-Syndrome eine absolute Lymphopenie zeigen: Flandrin und Brouet (57): 680 - 68.000, Edelson et al. (50): 8.500 - 240.000, Hamminga et al. (70): 900 - 43.000 und Büchner und Winkelmann (22): 3.300 - 18.100/mm³. Die übrigen Laborwerte sind weitgehend unspezifisch: Die Blutsenkung ist meist beschleunigt (91). Da das Knochenmark selten von den SC infiltriert wird, bleiben das rote Blutbild und die Thrombozytenwerte weitgehend normal: Huhn et al. (78) beobachteten bei nur 6 von 28 SS eine normochrome Anämie (Hb < 12g %) und bei jeweils einem von 28 Patienten Veränderungen der Bluteiweiße und eine Thrombozytopenie (< 150.000/mm³). Kövary et al. (96) berichteten von 9 Fällen in der Weltliteratur, in denen eine monoklonale Gammopathie beim SS vorlag. Häufig sind Ig A und Ig M betroffen. In späten Krankheitsstadien kann die LDH erhöht sein (vor allem die LDH-Isoenzyme 1 - 3). Die Veränderungen der LDH-Werte verlaufen parallel mit den Lymphozytenzahlen und zeigen eine Progression des SS oder ein Ansprechen auf die Therapie an. Als Tumormarker in frühen Stadien scheint die LDH allerdings zu wenig Sensitivität zu besitzen (116).

2.1.4 Die Epidemiologie des Sézary-Syndroms

Das SS ist eine ungewöhnliche, aber keine extrem seltene Krankheit (91). In dem von Burg und Braun-Falco (31) analysierten Krankengut mit 736 malignen Lymphomen mit Hautbeteiligung fanden sich in 7 % SS und in 26 % MF. Die Geschlechtsverteilung beträgt bei unserer Zusammenstellung von 57 Patienten 35 Männer und 22 Frauen. Bemerkenswert ist,

daß es sich in allen vier Fällen, die Sézary 1949 (156) zusammenfaßte, um weibliche Patienten handelte. Bei Burg und Braun-Falco (31) beträgt das Geschlechtsverhältnis (Männer:Frauen) 3:2.

Das wahrscheinlichste Erkrankungsalter liegt zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr (116, 189).

Jedoch wurde das SS auch bei sehr jungen Patienten beobachtet: Ebner et al. (48) berichteten über einen 20jährigen Mann und Edelson et al. (50) über einen 7jährigen Knaben mit SS.

Bei Kerl (90) lag das mittlere Erkrankungsalter um 66 Jahre mit breitgestreuten "prädiagnostischen" Intervallen. Winkelmann (189) stellte einen früheren Krankheitsbeginn für Frauen (55 Jahre) als für Männer (63 Jahre) fest. Die Krankheitsdauer betrug bei Männern durchschnittlich vier, bei Frauen sechs Jahre, die Spannweite der Erkrankungsdauer war jedoch geschlechtsunabhängig sehr groß (1 - 11 Jahre). Nach anderen Untersuchungen beträgt die mittlere Überlebenszeit beim SS etwa fünf Jahre (31, 78, 146).

2.1.5 Klinische Differentialdiagnose

Das SS ist klinisch vor allem von Erythrodermien bei anderen Lymphomen und Leukämien sowie von verschiedenen ekzematösen (seborrhöische Erythrodermie, Neurodermitis, Kontaktekzem) und psoriatischen Erythrodermien abzugrenzen.

Falls die ekzematösen Erythrodermien sehr hartnäckig sind, kann die Differentialdiagnose schwierig werden. Winkelmann und Caro (192) beobachteten sogar Übergänge in ein SS bei drei Patienten mit einer atopischen Erythrodermie.

Ferner ist noch an Arzneimittelreaktionen und kongenitale Erythrodermien zu denken (91).

Nach Löffler (110) ergeben sich vom rein zytologischen Aspekt Schwierigkeiten, eine vorwiegend kleinzellige Variante des SS

von einer chronisch lymphatischen Leukämie abzugrenzen. Hierbei ist dann vor allem das klinische Bild entscheidend.

Die erythrodermatische MF vom Typ Besnier-Hallopeau dürfte ebenso wie die Erythrodermie vom Typ der Pityriasis rubra Hebra-Jaddassohn mit großer Wahrscheinlichkeit mit dem SS identisch sein (95).

Die derzeit gefundene Zunahme der Fälle mit SS geht möglicherweise auch auf Kosten der chronischen Erythrodermie vom Typ der Alterserythrodermie Herzberg und der Dermatitis exfoliativa Wilson - Brocq (15, 95).

In Japan wurden in letzter Zeit mehrere T-Zell-Leukämien mit den SC ähnlichen zirkulierenden lymphoiden Zellen bei Erwachsenen beobachtet (158, 171). Huhn et al. (81) unterscheiden bei den chronischen T-Zell-Leukämien fünf Subtypen, darunter auch einen SS ähnlichen. Obwohl Übergänge vorkommen können, läßt sich eine Abgrenzung gegenüber dem SS aufgrund der Ultrastruktur und Zytochemie der zirkulierenden Zellen, der fehlenden Erythrodermie, der Knochenmarksinfiltration und des rapiden Verlaufs vornehmen (81, 171).

2.2 Mycosis fungoides (MF)

2.2.1 Geschichte

Die MF wurde schon etwa 130 Jahre früher als das SS beobachtet:

1806 beschrieb der französische Baron und Arzt Louis Alibert einen Patienten namens Lucas, bei dem nach einem starken schuppigen Hautausschlag kleine Hauttumoren sich entwickelten. Die Tumoren, die Champignons ähnelten, schrumpften zum Teil wieder und einige verschwanden sogar, andere blieben gleich groß und erodierten.

Der Patient konnte noch fünf Jahre seiner Beschäftigung nachgehen, bis er nach 7 Monaten Bettlägrigkeit unter starkem

Fieber verstarb.

30 Jahre später änderte Alibert seine ursprüngliche Bezeichnung "pian fungoid" in Mycosis fungoides um. Alibert rechnete allerdings, wie Hebra und Kaposi in ihrem Lehrbuch der Hautkrankheiten 10 Jahre später kritisch bemerkten, die MF zum Formenkreis der Syphilis bzw. Frambösie (168).

Einen wesentlichen Fortschritt in der klinischen Beschreibung der MF erreichte 1870 der französische Dermatologe Bazin. Er konnte nach dem Studium von 10 MF-Patienten drei sukzessiv verlaufende Krankheitsstadien definieren:

- a) das erythematöse oder prämykoseide Stadium,
- b) das infiltrative Plaque-Stadium und
- c) das Tumor-Stadium.

Vidal und Brocq beschrieben 1885 eine d'emblée Variante. Hierbei entstehen Tumoren ohne ekzematöse oder plaqueförmige Vorstufen. 1892 veröffentlichten Besnier und Hallopeau ihre Beobachtung einer erythrodermatischen Form der Mycosis fungoides.

Schon sehr früh wurde die Frage diskutiert, ob die MF von Anfang eine neoplastische Erkrankung oder doch entzündlicher Natur sei. 1897 vertrat Duhring die Auffassung, die MF sei initial entzündlich und entwickle sich dann zu einer neoplastischen Erkrankung, während Paltauf 1909 die MF für ein Lymphosarkom hielt. Er bewies allerdings, indem er außer in der Haut auch im Lymphknoten und in inneren Organen MF-Herde feststellte, daß die MF zu den Systemerkrankungen zu rechnen ist. In der Folgezeit vertraten vor allem die europäischen Dermatologen eine entzündlich - granulomatöse Theorie der MF-Entstehung (Köbner, von Zumbusch, Auspitz) aufgrund des frühzeitig auftretenden entzündlich - polymorphzelligen Infiltrats, während besonders amerikanische Wissenschaftler eine primär neoplastische Theorie für richtig hielten (Fraser, van Scott, Montgomery, Pinkus und Mehregan) (nach 24).

Das letztere Modell stützt sich auf das Vorkommen einer Infiltratzelle mit blastomatösem Charakter, die mit der Sézary-Zelle identisch ist (168).

Bluefarb (10) stellte 1955 die dreiphasig verlaufende Alibert-Bazinsche Form als klinisch - pathologische Einheit heraus.

Die d'emblée Variante ist nach heutiger Erkenntnis eher als Lymphosarkom oder als Morbus Hodgkin anzusehen, während die erythrodermatische Form zum größten Teil dem SS zuzuordnen ist (10, 28).

Winkelman und Caro (192) stimmen mit Bluefarb (10) überein, daß die meisten Fälle des "roten Mannes" andere Dermatosen und Dermatitisen, Arzneimittelreaktionen, Sézary-Syndrome oder andere Lymphome darstellen. Für Winkelman und Caro (192) existiert die Besnier-Hallopeausche Form nur als seltene generalisierte zusammenfließende Ausbreitung einer MF.

2.2.2 Klinische Befunde der Mycosis fungoides

Auch heute gilt im Prinzip noch die von Bazin vorgenommene dreistufige Einteilung der MF. Moderne Klassifikationssysteme berücksichtigen außerdem noch eine evtl. vorhandene Lymphknotenbeteiligung und einen möglichen Befall viszeraler Organe (28). Die Diagnose wird meistens klinisch gestellt und durch den histologischen Befund untermauert. Letzterer ist allerdings im prämykoiden Stadium meistens unspezifisch (174).

2.2.2.1 Das prämykoiden Stadium (zitiert nach Jappeiner und Gschnait (168))

Dieses ist durch leicht schuppige, meist ovale, mehr oder weniger scharf abgegrenzte Erytheme von gelblich-bräunlich-

roter Farbe gekennzeichnet. Die Herde sind bei typischer Ausprägung an den seitlichen Stammportionen und an den stammnahen Extremitätenanteilen lokalisiert. Die Veränderungen begleitet meist ein geringgradiger Juckreiz, wodurch sekundär Exkoriationen, Pyodermien, Ekzematisation und Lichenifikation vorkommen. Die Differentialdiagnose gegen das seborrhoische Ekzem, gewisse Formen der Psoriasis, die Pityriasis rosea kann in diesem Stadium klinisch Schwierigkeiten bereiten. Die typische Anamnese des Patienten, der angibt ohne Erfolg "schon alles geschmiert zu haben" sowie die Besserung der Dermatose nach intensiver Sonnenbestrahlung, wobei meist in den Herden eine Hyperpigmentierung und leichte Atrophie eintritt, werden zur klinischen Diagnose beitragen.

2.2.2.2 Das Plaque-Stadium (zitiert nach Tappeiner und Gschnait (168))

Hierbei entstehen jetzt plattenartige Infiltrate. Die einzelnen Herde, die zur Konfluenz neigen und dann große Teile der Körperoberfläche einnehmen können, wobei die innerhalb flächenhafter Areale ausgesparten Inseln normaler Haut typisch sind ("îlots réservés" oder "nappes claires"), haben eine bläulich-rote Farbe und eine glatte oder schuppende, mitunter erodierte und verkrustete Oberfläche. Die Differentialdiagnose ist die Psoriasis vulgaris. Treten Infiltrate an den Unterschenkeln auf, kommt es durch die Hypostase zu Blutungen und Hämosiderinablagerungen. Verwechslungen mit dem postthrombotischen Syndrom oder mit Morbus Kaposi kommen vor. Infiltrate an Handflächen und Fußsohlen sind durch hyperkeratotische Auflagerungen gekennzeichnet und lassen evtl. an hereditäre Keratome, Mykosen, Psoriasis und an die Lues denken.

2.2.2.3 Das Tumor-Stadium

Während dieses Krankheitsabschnittes kommt es zur Ausbildung der klassischen, weichen "Tomatentumoren", die meist innerhalb

größerer erythematöser Areale stehen. Die klinische Diagnose bereitet in diesen Fällen in der Regel keine Schwierigkeiten, differentialdiagnostisch sind andere Non-Hodgkin-Lymphome bzw. auch der kutane Morbus Hodgkin zu bedenken.

Aus der MF kann sich auch wie beim SS ein Lymphom vom hohen Malignitätsgrad entwickeln (151, 152, 154).

2.2.3 Laborwerte bei der Mycosis fungoides

Seit Clendenning et al. (35) bei sechs ihrer 30 MF-Patienten zwischen 8 und 33 % SC im Blut fanden, erschienen mehrere Arbeiten über die Bedeutung der zirkulierenden SC bei der MF. Je nach Untersuchungsart und Untersucher schwanken die gefundenen Werte zwischen 2 - 45 % (177), 0 - 35 % (201) der lymphoiden Zellen und 0 - 1 % der Leukozyten (184). Genauere Angaben über Methodik, Untersuchungsmaterial und die Zahl der gefundenen SC im Blut bei der MF sind in Kapitel 2.4.4 in Tabelle V dargestellt.

Wie Clendenning et al. (35) in ihrer Arbeit 1964 erwähnten, beobachteten vor ihnen auch schon mehrere Untersucher atypische Blutzellen bei der MF (9 Arbeiten angeführt).

Lane und Greenwood (101) konnten bereits 1933 bei 23 % der MF-Fälle zirkulierende atypische mononukleäre Zellen nachweisen.

Die übrigen Laborwerte sind in frühen Krankheitsstadien meistens nicht grob pathologisch verändert; Hinweise fanden sich lediglich für im Mittel erhöhte IgE-Spiegel (117, 166). Andere Autoren konnten dies jedoch nicht verifizieren (39, 124, 197).

2.2.4 Die Epidemiologie der Mycosis fungoides

In letzter Zeit häufen sich Berichte, daß Personen, die gegenüber Karzinogenen und allergisierenden Substanzen besonders exponiert sind, ein erhöhtes Risiko der MF-Entstehung besitzen:

Bei 43 von 44 CTCL konnte vielfache Exposition gegenüber karzinogenen und allergisierenden Stoffen nachgewiesen werden (56). Die zwei häufigsten Stoffklassen waren Chemikalien (91 %) und "drugs" (86 %). In der Chemikaliengruppe kamen die Patienten am häufigsten mit luftverunreinigenden Substanzen, Pestiziden und Lösungsmitteln in Berührung, unter den "drugs" standen Tabak, Analgetika, Tranquillizer und Thiazide an der Spitze.

14 von 22 CTCL berichteten von rezidivierenden Herpes simplex-Infektionen in der Vorgeschichte (56).

In einer weiteren epidemiologischen Studie (52, 64) wurde beobachtet, daß 30 % der MF-Patienten wenigstens einer gefährlichen Chemikalie oder Metallverbindung ausgesetzt waren: vor allem petrochemischen Stoffen (11 %), Metallen (7 %) und Lösungsmitteln (6 %).

Leider fehlten jedoch in beiden Untersuchungen die Kontrollgruppen.

Cohen et al. (38) bewiesen aber in einer Fall-Kontroll-Studie, daß Beschäftigte in Industriebetrieben verglichen mit Normalpersonen ein 4,3fach höheres Risiko besitzen, an MF zu erkranken.

Obwohl 77 % aller Patienten vor der richtig diagnostizierten MF-Läsion an nicht-infektiösen Hauterkrankungen litten, war von nur 16 % bekannt, daß sie vorher eine Poikilodermie, Parapsoriasis oder Alopecia mucinosa aufwiesen, also Krankheiten, die als Vorstadien der MF gelten. Dies beweist vor allem die schlechte klinische

Definition der Frühstadien (64).

Büchner und Winkelmann (22) beobachteten bei 4 von 7 SS allergische Erscheinungen in der Vorgeschichte.

9 von 211 Patienten (= 4 %) berichteten über Verwandte

1. Grades mit Lymphomen oder Leukämien und in einer Familie erkrankten sowohl der Vater als auch die Tochter an CTCL (64).

Familäre Häufung von CTCL wurde schon von 4 anderen Familien berichtet (143). Zusammen mit der Häufigkeit der HL-A Antigene Aw 31 und Aw 32 bei dieser Erkrankung (44) sprechen diese Daten für eine mögliche genetische Diathese (52).

Die jährliche Inzidenz der MF liegt etwa zwischen 1:100.000 (Clendenning, zitiert nach (28)) und 1:200.000 (52).

Zwischen 1950 und 1975 starben an der MF in den USA 1.984 Personen (52). Die Erkrankungshäufigkeit an CTCL dürfte wenigstens so hoch wie die des Morbus Hodgkin liegen (51).

Über die Geschlechtsverteilung besteht Unklarheit:

Nach Burg und Braun-Falco (31) ist das männliche Geschlecht dreimal häufiger betroffen, auch Cohen et al. (38) geben ein Verhältnis von 1:1,5 Frauen zu Männern an, während es sich in Greenes et al. (64) Serie bei 64 % aller MF- Patienten um Frauen handelte.

Bevorzugt befallen ist das 3. bis 6. Lebensjahrzehnt (28,74). Bei Greene et al. (64) waren 81 % der Patienten 45 Jahre und älter.

Nach Epstein et al. (54) beträgt die mittlere Überlebenszeit ab dem Zeitpunkt der Diagnose weniger als 5 Jahre. Von den ersten Symptomen bis zur Diagnosestellung vergehen im Mittel 3,8 Jahre. Für Patienten mit palpablen Lymphknoten oder Hauttumoren beträgt die Überlebenszeit nur jeweils 2,5 Jahre. Bewiesener spezifischer Lymphknotenbefall reduziert die Zeitspanne auf 18 Monate im Gegensatz zu 34 ohne diesen. Erkrankte mit viszeralem Befall, der zur Hepatomegalie oder Splenomegalie führt, haben die schlechteste Prognose (3 Monate).

Falls nur die Haut von der Krankheit betroffen ist, kann die mittlere Überlebenszeit gemessen ab dem Zeitpunkt der Hautbiopsie noch etwa 10 Jahre betragen (38).

2.3 Parapsoriasis en plaques

Die Mycosis fungoides kann nach Ansicht vieler Autoren auf dem Boden einer Parapsoriasis en plaques (P en P) entstehen. Zugleich ist die Parapsoriasis en plaques eine wichtige Differentialdiagnose zum prämykoiden Stadium der MF.

2.3.1 Geschichte

1902 faßte als erster Brocq in seiner "étude synthétique des parapsoriasis" diese Gruppe als neue klinische Einheit auf. Er schlug eine neue Klasifikation vor, die unter dem Oberbegriff Parapsoriasis die

- Parapsoriasis en plaques (P en P),
- Parapsoriasis lichenoides und die
- Parapsoriasis en gouttes subsumierte.

Spätere Autoren (34, 84) trennten die Parapsoriasis en gouttes aufgrund klinischer und histologischer Differenzen von den beiden anderen Parapsoriasis-Formen ab. Neuerdings wird die Richtigkeit dieser Entscheidung bezweifelt (5).

Montgomery prägte für die Parapsoriasis lichenoides auch den Ausdruck großfleckige Parapsoriasis en plaques, die der kleinfleckigen eigentlichen Parapsoriasis en plaques gegenübergestellt wird.

Bonvalet et al. (11) sowie Burg und Braun-falco (31) differenzieren die Parapsoriasis en grandes plaques nochmals in eine Parapsoriasis en grandes plaques simples und in eine Parapsoriasis en grandes plaques poikilodermiques.

2.3.2 Klinik und Histologie

Heid et al. (73) teilten aufgrund von retrospektiven Studien der kleinfleckigen P en P folgende diagnostische Kriterien zu:

- Dauer des Krankheitsverlaufs (länger als 2 Jahre).
 - Lokalisation der Hauterscheinungen: besonders betroffen sind die inneren Seiten der Oberarme und der laterothorakale Bereich.
 - Erhöhte Anzahl der Plaques (durchschnittlich 20).
 - Größe der Plaques: der Durchmesser ist gewöhnlich kleiner als 10 cm, wenigstens außerhalb der Unterschenkel, wo die Plaques größer sind, aber selten vorkommen.
 - Das Fehlen poikilodermatischer Veränderungen.
- Weniger wichtig für die Diagnose waren: die Farbe der Plaques, Juckreiz (bei 9 von 20 Fällen vorhanden) und die Besserung durch Sonnenlicht (nur bei einem Drittel der Patienten).

Für die großfleckige P en P ermittelten sie folgende wesentliche Kriterien:

- Poikilodermatischer Charakter und Chronizität der Hauterscheinungen.
Dieser poikilodermatische Aspekt veranlaßte Bonvalet et al. (11) bei der Parapsoriasis en grandes plaques zwischen einer Parapsoriasis en grandes plaques simples und einer Parapsoriasis en grandes plaques poikilodermiques, vielfach auch als Parakeratosis variegata bezeichnet, zu unterscheiden.
- Lokalisation: charakteristisch ist die Beteiligung von Brustbereich und Oberschenkeln.
- Geringe Anzahl von Plaques: durchschnittlich sechs.
- Größe der Plaques: der Durchmesser ist größer als 10 cm, wenigstens für die größten Plaques.
- Die Krankheit beginnt ungefähr um das 40. Lebensjahr, aber Fälle im Jugendalter sind hier nicht selten.

Die anderen Zeichen sind wesentlich unbedeutender: Die Farbe ist inhomogen rot, die Begrenzung oft unscharf, Juckreiz findet sich in der Hälfte der Fälle und Sonnenlicht wirkt nur bei

einem Viertel der Erkrankten günstig.

Die Histologie der kleinfleckigen P en P ist unspezifisch. Einzig die Hinzuziehung des klinischen Bildes und die chronische Entwicklung rechtfertigen es, diese Diagnose aufrecht zu erhalten (73). Die Parapsoriasis en grandes plaques weist erst ein charakteristisches Bild auf, wenn ihr poikilodermatischer Aspekt in Erscheinung tritt (31, 73).

2.3.3 Verlauf der Parapsoriasis en plaques

Heid et al. (73) beobachteten bei 10 von 51 Patienten einen Übergang in maligne Hämoblastosen. Alle 10 malignen Transformationen wurden bei den 31 Fällen der großfleckigen P en P festgestellt: es handelte sich dabei um 7 MF, 1 Morbus Hodgkin, 1 chronisch lymphatische Leukämie und 1 Morbus Waringer-Kolopp (pagetoide RetikULOse). Die Wahrscheinlichkeit für Träger einer großfleckigen P en P, eine MF zu bekommen, beträgt demnach etwa 20 %.

Als klassische Zeichen eines Übergangs in eine maligne Hämoblastose werden angeführt (73):

- Infiltration der Hauterscheinungen mit Juckreiz und Schuppenbildungen.
- Auftreten und Verschwinden von Effloreszenzen in alternierender Reihenfolge.
- Serpiginöse oder zirzinäre Herde mit infiltrierten Rändern oder ungewöhnlicher Lokalisation (Gesicht, Extremitäten).

Bonvalet et al. (11) beobachteten bei keinem Fall einer kleinfleckigen P en P einen Übergang in eine MF, wohl aber bei einer von 25 Parapsoriasis en grandes plaques simples und fünf von 25 Parapsoriasis en grandes plaques poikilodermiques. Vier weitere an Parapsoriasis en grandes plaques poikilodermiques Erkrankte zeigten Symptome eines malignen Übergangs.

Nach Bardach und Raff (5) besteht bei allen Parapsoriasisformen ein immunologisches Gleichgewicht zwischen Organismus und latentem Lymphom, das einerseits maximal zugunsten des Krankheitsträgers (kleinfleckige P en P), andererseits auch mehr oder weniger in Richtung einer potentiellen Malignität (Parapsoriasis lichenoides) verschoben sein kann.

Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre, daß das Immunsystem durch eine jahrelang bestehende chronische Entzündung so gefordert und beansprucht wird (zum Beispiel durch die großfleckige P en P), daß sich irgendwann einmal Fehler bei den Steuerungsmechanismen oder Zelldifferenzierungen einstellen können.

2.4 Die Sézary-Zelle

2.4.1 Die Morphologie der Sézary-Zelle

Wie in Abschnitt 2.1.3 erwähnt, sind die Sézary-Zellen mit mehreren Methoden im Blut nachzuweisen.

Je nach angewandter Untersuchungsmethode ergeben sich Unterschiede in ihrer Morphologie.

2.4.1.1 Die Sézary-Zelle im panoptisch-gefärbten Blutausstrich (Lichtmikroskopie)

Die Größe der SC im Blutausstrich schwankt sehr stark: sie braucht nur etwa ebenso groß wie ein normaler kleiner Lymphozyt sein, kann jedoch auch einen Monozyten bei weitem überragen.

Der Kern, der fast immer wenigstens 80 % der Zelle einnimmt, ist rund oder oval, wirkt wie von feinen Rillen durchzogen (Abb.2), angedeutet gefalten oder sogar an wenigen oder mehreren Stellen eingekerbt (Abb. 1).

Nukleoli werden nur selten beobachtet.

Das Zytoplasma, das als schmale Rinne um den Kern erscheint, bietet ein klares hyalines und leicht basophiles Aussehen (Abb. 1 und 2).

Von einzelnen Autoren wird eine angedeutete staubartige Azurgranulation in einzelnen Zellen beschrieben, von den meisten wird das Vorhandensein von Granula aber bestritten (7d).

Bei einigen Patienten können die Zellen mehrere zytoplasmatische Pseudopodien besitzen, die dann gewöhnlich mit Vakuolen angefüllt sind, die im panoptisch-gefärbten Blutaussstrich gerade so eben sichtbar sind. Ähnliche kleine Vakuolen können sich auch in einer halskettenartigen Anordnung um den Kern herum befinden, wobei sie die schmale Zytoplasmarinne fast ganz ausfüllen.

In der PAS-Färbung reagieren die Vakuolen um den Kern und in den Zytoplasmaausläufern sehr stark positiv (31, 169).

Flandrin und Brouet (57) unterscheiden rein morphologisch zwischen kleinen und großen SC: "Die großen SC sind etwa 12 - 20 μ m groß und besitzen die oben beschriebene Kernstruktur. Die kleinen SC sind schwer von den normalen Lymphozyten zu differenzieren, sie haben die gleiche Größe (8 - 11 μ m), manchmal ist ihr Kern größer und ihre Kernplasmarelation höher als bei den normalen Lymphozyten. Nur durch die besondere Kernstruktur sind die kleinen SC von ihnen zu unterscheiden.

Dieses Merkmal teilen sie mit den großen SC, im Unterschied dazu besitzen sie öfter zytoplasmatische Vakuolen und ihr Kern ist seltener eingebuchtet als bei den 12 - 20 μ m großen SC (nach Flandrin und Brouet (57))".

Um die großen SC nicht mit den Monozyten zu verwechseln, ist zu beachten, daß die Monozyten

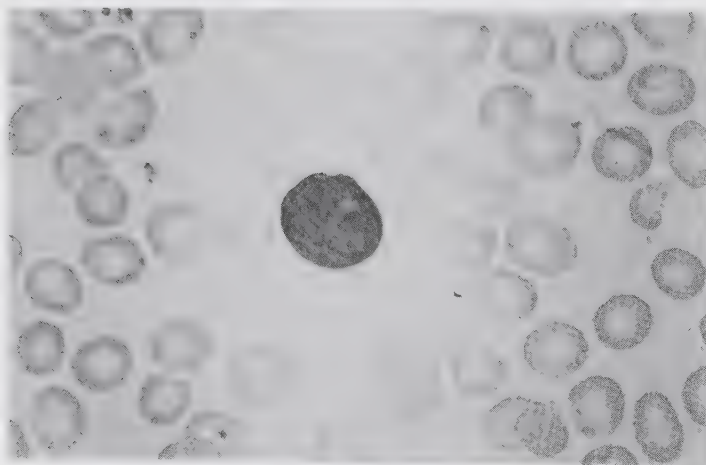
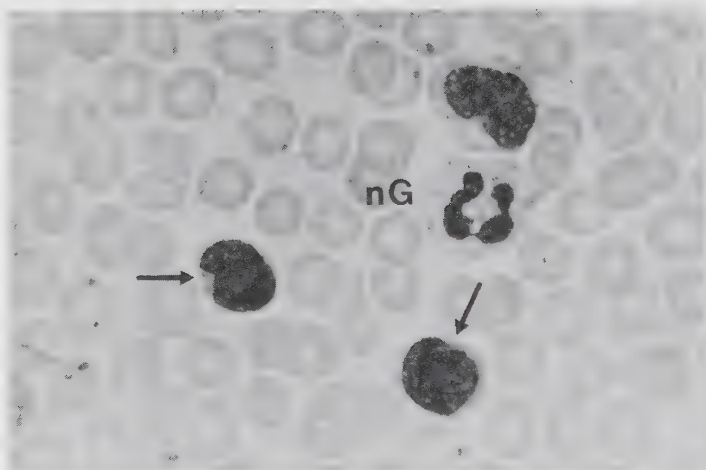
- ein helleres und feiner gekörntes Chromatinmuster (110),

Abb. 1: Sézary-Zellen im Blutausstrich

Typisch für die Sézary-Zellen (→) sind die Kerneinbuchtungen und der schmale Zytoplasmasaum. Über die Tiefe der Kerneinbuchtungen läßt sich im Blutausstrich nur schwer eine Aussage treffen.
nG: neutrophiler Granulozyt. x 1300.

Abb. 2: Sézary-Zelle im Blutausstrich

Auffällig ist die gyrierte, wie von feinen Rillen durchzogene, Kernstruktur und das spärliche Zytoplasma.
x 1300.



- meistens tiefere und breitere Einfaltungen des Kerns,
- eine niedrigere Kernplasmarelation und
- einen reichlicheren Zytoplasmasaum besitzen.

Seit Lutzner et al. (115) bei vier SS- Patienten die zirkulierenden lymphoiden Zellen untersuchten und dabei aufgrund zytogenetischer Studien hypo-hypertetraploide und hyperdiploid-pseudodiploide Zelllinien fanden, versuchten mehrere Autoren (auch Lutzner selbst), aufgrund der morphologischen Erscheinung der Zellen auf ihren Chromosomensatz zu schließen: sie nahmen an, daß die großen SC hypo-hypertetraploide und die kleinen SC hyperdiploide - pseudodiploide DNA-Werte besitzen. Kurze Zeit später stellten jedoch Litovitz und Lutzner (108) fest, daß der Mittelwert der Zelldurchmesser für die fast tetraploiden Zellen ($13 - 14, \mu\text{m}$) sich im Lichtmikroskop nicht stark von einer hyper-pseudodiploiden Zelllinie unterschied ($11,5, \mu\text{m}$).

Crossen et al. (41) untersuchten bereits 1971 zytophotometrisch zirkulierende SC und entdeckten, daß sich unter den kleinen Zellen drei Zelllinien mit DNA-Werten befanden, die mit den Chromosomenzahlen $46 - 47$, $70 - 76$ und $86 - 100$ gut korrelierten.

Unter den großen Zellen stellten sie nur zwei bezüglich des DNA-Inhaltes verschiedene Populationen fest: eine seltenere mit Werten, die der Chromosomenzahl $86 - 100$ und eine häufigere, die der Chromosomenzahl $70 - 76$ entsprach.

Es ist also nicht ohne weiteres möglich, aufgrund einer Größenmessung auf die zytogenetischen Hintergründe zu schließen.

Vonderheid et al. (184) analysierten bei 9 SS, bei denen im Blutaussstrich mehr als 50% SC unter den lymphoiden Zellen festgestellt werden könnte, die Chromatinverteilung und den DNA- Inhalt lymphoider Zellkerne. Dabei unterscheidet sich die G_0 - und G_1 - Phase bezüglich dieser beiden Parameter bei lymphoiden Zellen nur durch eine höhere Chromatin-

verteilung in letzterer. In der G_2 - Phase ist im Vergleich zur G_0 - und G_1 - Phase ein doppelter DNA- Inhalt zu erkennen, wogegen er in der S- Phase zwischen dem der G_1 - und G_2 - Phase liegt.

Bei 8 von 9 SS ließen sich zwei oder mehr Subpopulationen lymphoider Zellen nachweisen, die sich voneinander aufgrund des DNA- Inhaltes und der Chromatinverteilung differenzieren ließen. Bei 5 SS fanden sich zwar lymphoide Zellpopulationen, deren DNA- Inhalte der G_1 - und G_2 - Phase entsprachen, aber ihre Existenz konnte nicht mit einer Vermehrung der Zellen in der S- Phase erklärt werden.

Vonderheid et al. (184) teilten auch im Blutausstrich die SC nach ihrer Größe in kleine (8-11 μ m), mittelgroße (12 - 14 μ m) und große (15 - 19 μ m) ein. In fünf Fällen überwogen die großen SC die kleinen und bei vier SS fanden sich mehr kleine SC. Dabei konnten sie feststellen, daß die Zahl der lymphoiden Zellen mit DNA- Werten ähnlich der G_2 - Phase korrelierte mit der der großen SC im Blutausstrich. Bei einem weiteren SS beobachteten sie lymphoide Zellen mit normalem Chromosomensatz, mit fast diploiden und mit hypotetraploiden Chromosomenzahlen. Zwei SS besaßen ebenso drei Subpopulationen lymphoider Zellen, bestehend aus normalen Lymphozyten, lymphoiden Zellen in der S- Phase und mit hypotetraploiden Chromosomenzahlen.

Das SS, bei dem nur eine Subpopulation lymphoider Zellen zu erkennen war, besaß zwar Zellen mit einer im Vergleich zu ruhenden Lymphozyten stärkeren Chromatindispersion, aber mit gleichem DNA- Inhalt.

Nach Litovitz und Lutzner (108) liegen die Durchmesser lymphoider Zellen bei gesunden Normalpersonen im Blutausstrich zwischen 6 und 13 μ m und beim SS zwischen 7 - 19 μ m (gemessen bei 9 SS an jeweils 50 Zellen im Blutausstrich).

Bei mehreren Erkrankten wurden sowohl kleine als auch große SC gefunden (Flandrin und Brouet 1974 (57), Zucker-Franklin 1976 (203), Löffler 1980 (110) und Vonderheid et al. 1981 (184)). Zucker-Franklin (203) messen deshalb im Gegensatz zu Lutzner et al. (115) der Zellgröße keine wesentliche Bedeutung zu.

// Da über die Größenverhältnisse der zirkulierenden Sézary-Zellen wenig klare Ergebnisse vorliegen, werden diese in der vorliegenden Arbeit näher untersucht. //

Ob zum Nachweis von SC die Blutausstrichuntersuchung allein ausreicht, ist umstritten: drei verschiedene Positionen zeichnen sich ab:

- a) Ein Teil der Autoren hält die SC im Blutausstrich für klar erkennbar: Lutzner und Jordan (113), Braylan et al. (16), Hamminga et al. (70), Löffler (110) (bei technisch einwandfreien, dünnen Ausstrichen mit optimaler Färbung).
- b) Eine andere Gruppe erkennt Schwierigkeiten an, die Zellen bei einer Lymphopenie nicht zu übersehen: Schechter et al. (144) sowie Flandrin und Brouet (57).
- c) Die dritte Position lautet, daß vor allem die kleinen SC so enge Einbuchtungen besitzen können, daß sie dann leicht mit kleinen Lymphozyten zu verwechseln sind: Edelson et al. (50), Hoagland (75), Zucker-Franklin (203), Kövary et al. (95, 96) sowie Burg und Braun-Falco (31).

Myrie et al. (126) prüften die Leistungsfähigkeit der Blutausstrichuntersuchung auf Sézary-Zellen bei 33 Patienten mit MF und SS. Sie kamen zu dem Schluß, daß damit, verglichen mit der Semidünnschnitt- und der Ultradünnschnittanalyse, die Zahl der SC nicht mit genügender Sicherheit zu ermitteln

// Wegen der Unklarheit auf diesem Gebiet werden in dieser Studie auch die verschiedenen Methoden zur Erkennung der SC auf ihre Validität überprüft. //

2.4.1.2 Die Sézary-Zelle im Semidünnschnitt (Lichtmikroskop)

Der Semidünnschnitt stellt einen Mittelweg zwischen der noch aufwendigeren Elektronenmikroskopie und der einfacheren Methode der Ausstrichuntersuchung dar.

Mit ersterer hat er gemeinsam, daß hier Schnitte (und zwar etwas dünnere ($0,5 - 1 \mu\text{m}$) als in der Routinehistologie) untersucht werden, mit der zweiten verbindet ihn die Zugänglichkeit durch das Lichtmikroskop.

Der Semidünnschnitt wird meistens von der in Epon eingebetteten durch Ultrazentrifugation gewonnenen mononukleären Blutzellfraktion angefertigt. Die Abb. 3 zeigt einen Semidünnschnitt eines SS (JS).

Vom gleichen Eponblock können auch Ultradünnschnitte ($0,03 \mu\text{m}$ dick) für die Elektronenmikroskopie hergestellt werden.

Die Sézary-Zellen zeigen im Semidünnschnitt einen stark eingebuchteten Zellkern. Mitunter zerschneiden die Einbuchtungen den Zellkern in zwei oder mehrere Stücke (Abb.3).

Fraglich ist, wieviel Kerneinbuchtungen im Semidünnschnitt oder Ultradünnschnitt für die Diagnose einer SC ausreichen:

- Zucker-Franklin et al. (202): mehr als 2 Kerneinbuchtungen oder 2, beide tiefer als der halbe Kerndurchmesser.
- Meijer et al. (122): 2 tiefe Einbuchtungen, 1 wenigstens $2/3$ des Kerndurchmessers tief.
- Schmoekel et al. (150): wenigstens 3 tiefe Einbuchtungen.
- Guccion et al. (66): eine Einbuchtung mindestens $1/2$ des Kerndurchmessers tief und mehrere kleine Einfaltungen.

// Mit Hilfe einer exakten Methode auf ultrastruktureller Basis wird in der vorliegenden Arbeit eine Problemlösung für diese Frage versucht. //

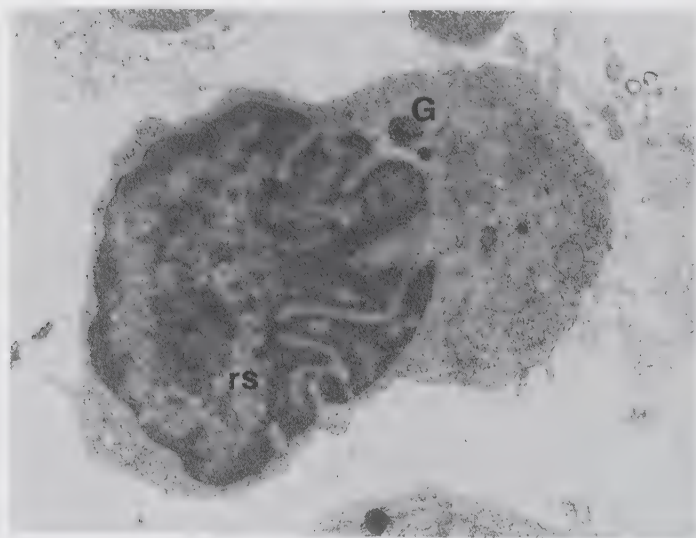
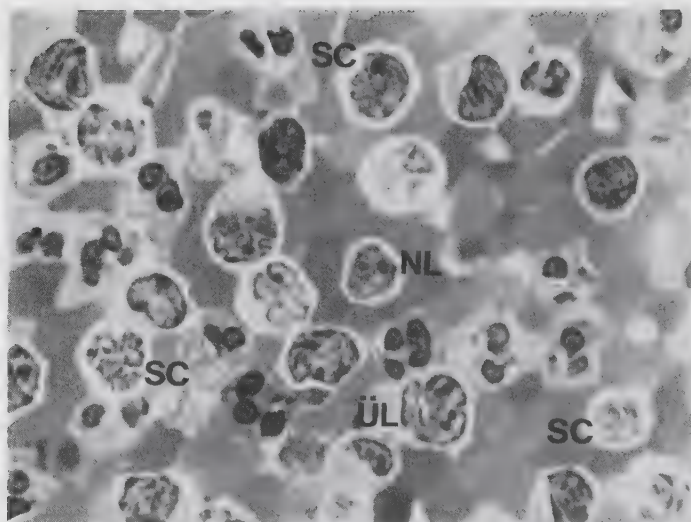
Abb. 3: Semidünnschnitt eines buffy coats eines
Sézary-Syndroms (JS)

Besser als im Blutausstrich, jedoch unsicherer als im Ultradünnschnitt, lassen sich die Sézary-Zellen (SC), Übergangslimphozyten (ÜL) und die normalen Lymphozyten (NL) im Semidünnschnitt erkennen. Die untere Sézary-Zelle besitzt einen deutlich prominenten Nukleolus. x 1800.

Abb. 4: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer zirku-
lierenden Sézary-Zelle (NCI = 7,8)

Diese Sézary-Zelle weist einen ringförmigen (rs) Nukleolus bei einem relativ ribosomenreichen Zytoplasma (Reifungsasynchronie zwischen Kern und Zytoplasma) auf, ferner eine monodirektionale Orientierung der Kerneinsbuchtungen sowie zytoplasmatische Glykogenpartikel (G).

Auffällig auch die allseits von Kernmaterial umschlossene Zytoplasmavagination und die angedeutete Uropodenbildung. x 12.400.



Entlang den Einbuchtungen und der Kernmembran der SC befindet sich im Semidünnschnitt ein bandartiges Heterochromatinmuster (Abb.3). Relativ oft sind Nukleolen zu sehen. Das Zytoplasma ist, wie der Blutausstrich schon zeigte, spärlich vorhanden und klar (Abb. 3).

Von normalen Lymphozyten unterscheidet sich die Sézary-Zelle durch ihre Kerneinbuchtungen, von den Monozyten durch

- die höhere Kernplasmarelation und
- die weniger breiten und plumpen Kerneinfaltungen.

Auffällige morphologische Unterschiede zwischen großen und kleinen SC wurden im Semidünnschnitt nicht beschrieben.

// Die Leistungsfähigkeit des Semidünnschnittes bei der Erkennung der SC wird in dieser Studie untersucht werden. Fraglich ist vor allem, ob die höhere Genauigkeit der ultrastrukturellen Methoden noch in einem vertretbaren Verhältnis zu dem dafür notwendigen Aufwand steht? Oder liefert die Semidünnschnittuntersuchung annähernd die gleichen Werte? //

2.4.1.3 Die Sézary-Zelle in der Elektronenmikroskopie

2.4.1.3.1 Allgemeine Ultrastruktur

Elektronenmikroskopisch bestehen zwischen zirkulierenden SC und SC in Geweben (Haut, Lymphknoten etc.) keine Unterschiede. Lutzner und Jordan (113) konnten 1968 zum ersten Mal die ultrastrukturellen Charakteristika der SC feststellen (Abb. 4-7 zeigen typische ultrastrukturelle Aufnahmen zirkulierender SC):

Im Gegensatz zu normalen Lymphozyten (Abb. 9 und 10), die einen runden Zellkern besitzen, stellt sich der Kern der Sézary-Zelle auf der Schnittfläche segmentartig geschlängelt bzw. labyrinthartig verzweigt dar; die einzelnen Teile sind an manchen Stellen mitunter nur durch schmale Brük-

ken oder überhaupt nicht verbunden (Abb. 6 und 7).

Gelegentlich kann eine Einbuchtung so getroffen werden, daß Zytoplasmaanteile allseits von Kernmaterial umgeben sind (Abb. 4). Falls sich im eingeschlossenen Zytoplasmaanteil Mitochondrien befinden, müssen diese Erscheinungen von mitochondrienähnlichen Kerneinschlüssen abgegrenzt werden (siehe Kap. 2.4.1.3.2).

Das Chromatin erscheint marginal verdichtet (Abb. 5-9). Relativ oft sind Nukleoli zu erkennen.

Das spärliche Zytoplasma ist relativ organellenarm (Abb. 5 - 9). Falls Organellen vorhanden sind, befinden sie sich meistens an dem Zellpol konzentriert, von dem die Kerneinbuchtungen ausgehen (monodirektionale Orientierung der Kernfalten (20)) (Abb. 4 und 5).

Vereinzelte sind Mitochondrien, freie Ribosomen, Polysomen, einige Lysosomen in der Nähe der Golgizone und ein spärlich entwickeltes rauhes endoplasmatisches Retikulum wahrzunehmen (Abb. 4-8).

Die Lysosomen stellen sich als elektronenoptisch dichte Granula (dense bodies) dar. Diese Organellen enthalten Aktivität der sauren Phosphatase; wenn sie eine Größe von etwa $0,3 \mu\text{m}$ überschreiten, werden sie lichtmikroskopisch als "Gall body" (Abb. 5) ("Gall'scher Körper") sichtbar (79, 167).

In einigen Zellen können sich herdförmige granuläre Ablagerungen befinden, die als Glykogenpartikel identifiziert wurden (78, 113) (Abb. 4).

Sie sind auch der Grund für die PAS- positive Reaktion einiger SC. Jedoch nicht alle SC besitzen PAS- positive Areale, so daß die PAS- Reaktion nicht zu ihrer Identifizierung im peripheren Blut beitragen kann (57).

Zucker-Franklin (201) berichtet über charakteristische Mikrofibrillen, die etwa $80 \text{ \AA}$ Durchmesser besitzen; ihre Länge kann nicht exakt bestimmt werden, da sie immer die Schnittebene kreuzen.

Abb. 5: Ultrastrukturelle Aufnahme einer zirkulierenden Sézary-Zelle bei einem Sézary-Syndrom (FG)

Charakteristisch sind die weitgehend mono-direktionale Orientierung der cerebriformen Kerneinsbuchtungen (NCI = 11,2) und der schmale Zytoplasmasaum, in dem Gall bodies (→) zu erkennen sind. Die Reifungsasynchronie zwischen Kern und Zytoplasma äußert sich in der Kombination eines Nukleolus mit einem Nukleonema (N) bei einem ribosomenarmen Zytoplasma. x 12.400.

Abb. 6: Zirkulierende Sézary-Zelle bei einer erythrodermatischen Kontaktdermatitis (DR) (NCI = 13)

Bemerkenswert die drei freien Kernanteile. Morphologisch nicht von den Sézary-Zellen beim Sézary-Syndrom differenzierbar. x 15.000.

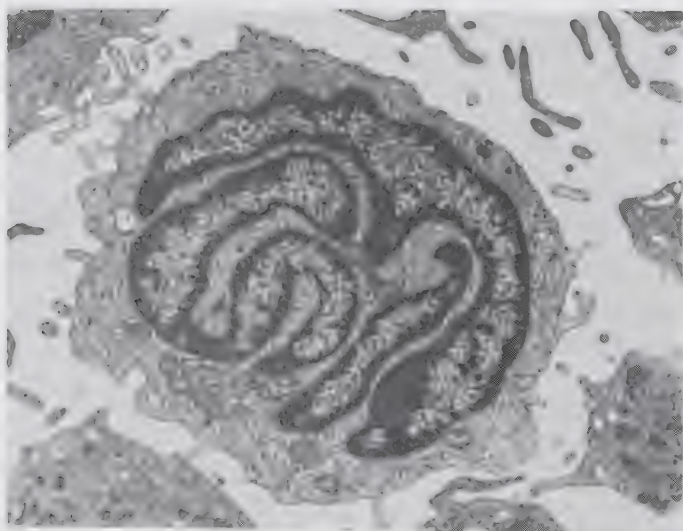


Abb. 7: Zirkulierende Sézary-Zelle bei einer erythro-
dermatischen Kontaktdermatitis (HD) (NCI =7,8)

Diese Sézary-Zelle weist keine Anzeichen einer Reifungsasynchronie auf, da sie einen ringförmigen Nukleolus (rs) bei einem ribosomenarmen Zytoplasma besitzt. Nur durch eine schmale Brücke sind die beiden Kernanteile miteinander verbunden. x 12.700.

Abb. 8: Lymphoide Zellen und Monozyten im Ultradünnschnitt

Durch die vielen dense bodies in ihrem Zytoplasma lassen sich die Monozyten (M) ultrastrukturell gut von den lymphoiden Zellen unterscheiden.

Die Sézary-Zelle (SC) (NCI = 8,6) weist zwei Kernsegmente und einen relativ großen Zytoplasmasaum auf. Der normale Lymphozyt (NL) (NCI = 4,8) besitzt eine allseits von Kernmaterial umschlossene Zytoplasmavagination. x 4.000.

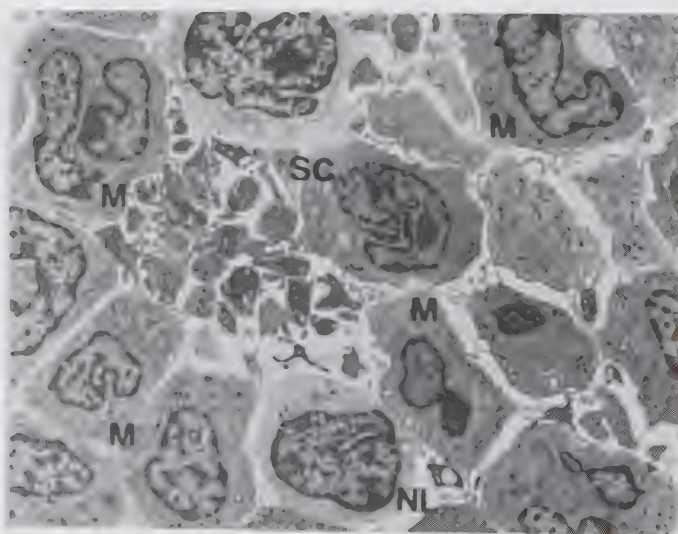
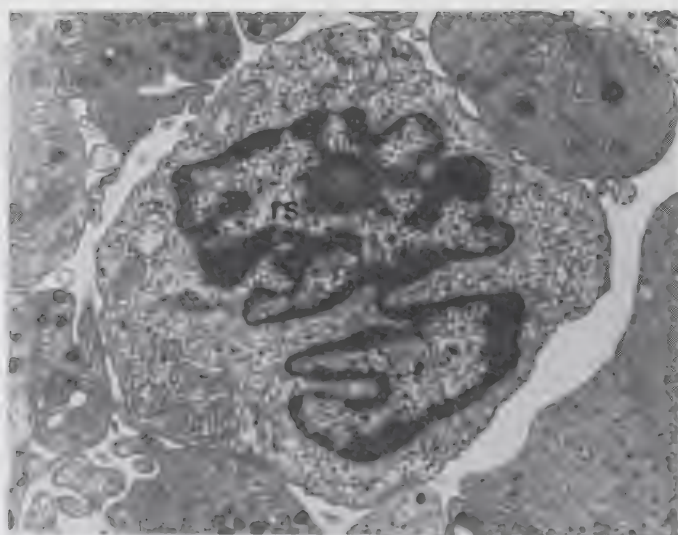


Abb. 9: Elektronenmikroskopische Aufnahme zirkulieren-
der lymphoider Zellen beim Sézary-Syndrom

Auffallend die Mitose einer lymphoiden Zelle (MI) im peripheren Blut. SC, Sézary-Zelle; ÜL, Übergangslimphozyt; NL, normaler Lymphozyt. x 4.000.

Abb. 10: Ultrastruktur eines normalen Lymphozyten
(NCI = 3,7)

In seinem Zytoplasma sind ein lipid droplet (ld) und zwei Gall bodies (→) zu sehen. Nach seiner Definition darf die Summe seiner Kerneinbuchtungen nicht über 0,5 des größten Kerndurchmessers liegen. Sein NCI muß kleiner oder gleich 5,0 sein. x 12.400.

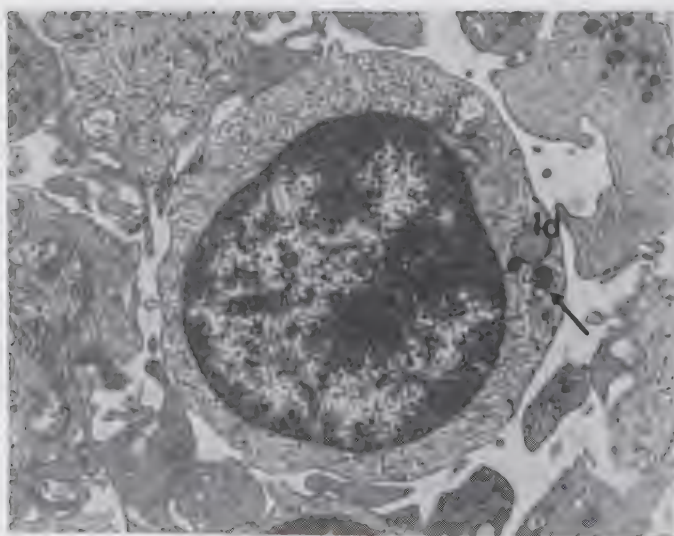
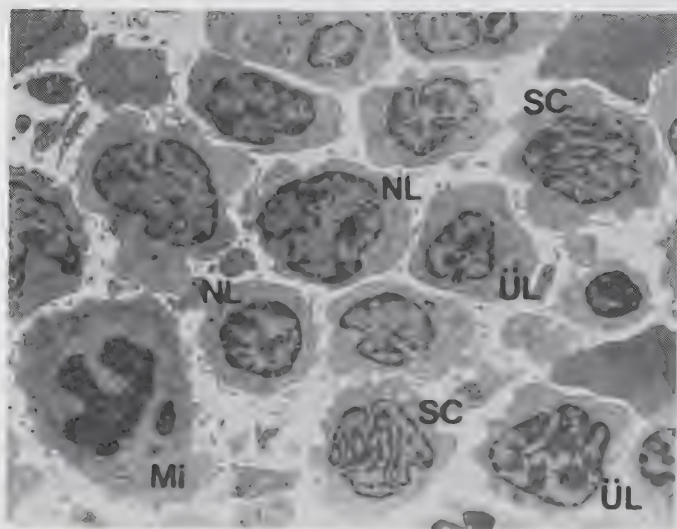


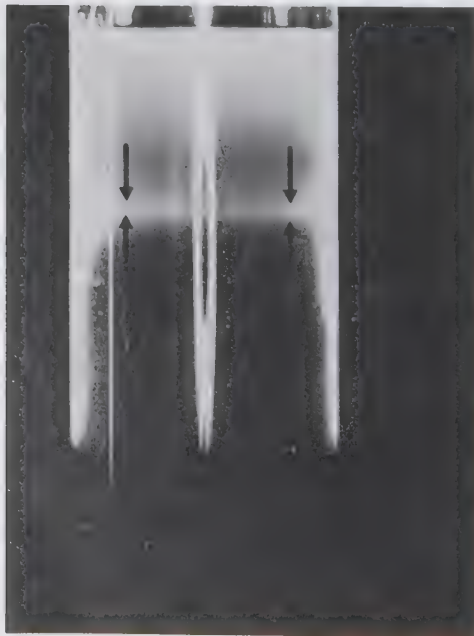
Abb. 11: Ultrastruktur eines Übergangslymphozyten
(NCI = 5,9)

Deutlich sichtbar das endoplasmatische Retikulum (ER). Per definitionem liegt die Summe aller Kerneinbuchtungen des Übergangslymphozyten zwischen 0,5 bis 1,5 des maximalen Kerndurchmessers. Dies entspricht einem NCI zwischen größer 5,0 und kleiner oder gleich 6,5. x 12.600.

Abb. 12: Die mononukleäre Blutzellfraktion am Ende
der Ficoll-Isopaque-Zentrifugation

Zwischen den Pfeilen befinden sich die Lymphozyten und Monozyten. Am Boden des Reagenzglas liegen die übrigen korpuskulären Blutanteile.

Über der mononukleären Blutzellfraktion läßt sich das Serum erkennen.



Sehr nützlich sind die Mikrofibrillen bei der Identifizierung der SC, die durch PHA stimuliert eine blastische Transformation durchmachen. Da die SC wie normale T-Lymphozyten während der Mitose die Fähigkeit, E-Rosetten zu bilden, beibehalten und sie während der Prophase ihre Kernirregulartät aufgeben, sind die Mitosefiguren im Zentrum der E-Rosetten, nur durch die 80 Å-Mikrofibrillen als SC zu identifizieren (201).

Der Ausdruck "convoluted" bei der Beschreibung des Kerns der SC sollte vermieden werden, um eine Verwechslung mit dem "T-Zell-Lymphom, convoluted type," auszuschließen (91).

2.4.1.3.2 Spezielle Ultrastruktur

Bei einigen SC wurden im Bereich der Golgi-Zone zahlreiche glatte und belegte Vesikel gefunden. Einige dieser besitzen elektronenoptisch dichte innere Membranen, die ihnen den Anschein inkompletter Viruspartikel verleihen (201).

Membrangebundene Einschlüsse, die elektronenoptisch dichte Partikel enthalten und die Strukturen ähneln, die in virusinfizierten Gewebekulturen beschrieben wurden, wurden ebenfalls gefunden (201).

Beide zuletzt erwähnten Figuren könnten aber auch das Ergebnis degenerativer Prozesse sein, so daß weitere Untersuchungen auf diesem Gebiet nötig sind.

Nicht nur im Zytoplasma, sondern auch im Kern sind bei den SC Abnormalitäten beobachtet worden:

Zucker-Franklin (201) fand bei einem SS- Patienten im Kern der SC 400 Å im Durchmesser betragende Partikel, die unvollständige kristalline Ordnungen bildeten. Ähnliche Strukturen können bei neoplastischen Zellen und in bestrahlten oder mit Viren infizierten Zellen beobachtet werden.

Smetana et al. (161) beschrieben bei SC drei weitere ultrastrukturelle Abnormalitäten:

- a) eine Reifungsasynchronie zwischen Nukleolus und Zytoplasma,
- b) die Anwesenheit eines mitochondrienartigen Einschlußkörpers im Kern und eines Kern- "rodlets" (nur in jeweils einer Zelle vorkommend), und
- c) Fusionen zwischen Mitochondrien und Kern.

Der Kern der SC enthält nach Smetana et al. (161) meistens einen ringförmigen Nukleolus, der ähnlich organisiert ist wie bei Lymphozyten und Lymphoblasten.

Er besteht aus einem großen lichten Zentrum, das von einem dichten peripheren Ring umgeben wird (Abb. 4 und 7).

Diese Nukleolusform entspricht den reifen Zellen und deshalb sollten sich im Zytoplasma nur wenige Ribosomen befinden.

Für unreifere Zellen mit vielen Ribosomen ist eher ein Nukleolus mit einem Nukleonema (Abb. 5) typisch. Im Gegensatz zum ringförmigen Nukleolus überwiegen hier die granulären Komponenten, während die fibrillären Elemente zurücktreten.

Das Nukleonema besteht aus einem äußerst feinstrukturierten Matrix-Material, in das dichte Granula von einem Durchmesser um 150 Å eingebettet sind. Diese Granula enthalten zwei r - RNA Moleküle, die aus 325 und 185 Ribonukleinsäuren bestehen (138). Wegen ihrer Ähnlichkeit mit zytoplasmatische Ribosomen werden diese Granula als die Ribonukleotidkomponenten des Nukleolus bezeichnet (55, 138).

Die Ribonukleotidkomponenten des ringförmigen Nukleolus befinden sich nur in seinem peripheren Teil (Abb. 4 und 7) (161).

Während einer normalen Zellreifung der Lymphozyten sollte sich der Nukleolus mit einem Nukleonema zu einem ringförmigen Nukleolus entwickeln, wobei die Ribosomenzahl sich in der Regel vermindert (8, 159).

Bei einigen SC ist jedoch eine Reifungsasynchronie festzustellen, die sich in der Kombination von ringförmigen Nukleoli mit vielen Ribosomen im Zytoplasma und Nukleoli mit Nukleonemas in ribosomenarmen Zellen äußert (Abb. 4 und 5) (161).

Diese Beobachtungen sind bei menschlichen Neoplasien einschließlich der der Lymphozyten und Plasmazellen nicht selten (8, 159, 161).

Die häufige Beobachtung von ringförmigen Nukleoli bei SC und der Nachweis, daß diese Nukleolusform das morphologische Korrelat einer verringerten nukleolären r - RNA Syntheserate darstellt, lassen vermuten, daß in SC die r - RNA Produktion niedrig ist (160). Steigt die Zellaktivität und damit auch die r - RNA- Produktion an, so vergrößert sich der Nukleolus vor allem durch die Zunahme der Granula und imponiert als Nukleonema (138).

Zur Unterscheidung von einem Anschnitt eines Mitochondriums in einer Zytoplasmavagination, befand sich beim von Smetana et al. (161) untersuchten Fall um den mitochondrienartigen Einschluß keine Kernmembran und kein kernmembranassoziiertes Chromatin.

Möglicherweise gelangte ein Mitochondrium während einer nicht exakt ausgeführten Mitose in den Kern (161).

In einigen SC bestehen auch enge Kontakte zwischen Mitochondrien und der Kernmembran (161). In solchen Fällen können die mitochondriale und nukleäre Membranen nicht voneinander unterschieden werden. Diese Beobachtungen lassen auf die Möglichkeit einer Fusion der Mitochondrien mit der Kernmembran schließen.

Die beiden letztgenannten ultrastrukturellen Abnormalitäten sind weitere Beweise für den neoplastischen Charakter der Sézary-Zellen (161).

2.4.1.3.3 Die dreidimensionale Morphologie der Sézary-Zelle

Bei dreidimensionalen Rekonstruktionen weist der Kern der SC einen zirkulären Umriß mit multiplen Kerneinfaltungen auf, so daß die Oberflächenstruktur einen cerebriformen Aspekt vermittelt (Abb. 5) (113).

Diese cerebriforme Natur des Kerns wurde durch die Gefrier-ätzmethode bestätigt (165).

Rasterelektronenmikroskopisch lassen sich auf der Zelloberfläche meistens wie auch bei normalen T-Lymphozyten nur wenige Mikrovilli darstellen (62).

In späteren Krankheitsstadien wird eine Zunahme gefunden (62).

Im Transmissionselektronenmikroskop finden sich sowohl Zellen mit wenigen (18, 62, 139) als auch mit vielen (49, 202) Zytoplasmaausläufern.

2.4.1.3.4 Unterscheidungsmerkmale zwischen Sézary-Zellen und Monozyten

In der mononukleären Blutzellfraktion finden sich neben den lymphoiden Zellen auch Monozyten.

Elektronenmikroskopisch lassen sich letztere durch mehrere Kriterien von den lymphoiden Zellen unterscheiden:

- Monozyten besitzen eine niedrigere Kernplasmarelation.
- Ihre Kerneinfaltungen sind breiter und plumper.
- Im Zytoplasma fallen viele für Monozyten charakteristische dense bodies auf, ferner ist es organellenreicher.
- Im Zytoplasma der Monozyten befindet sich öfter phagozytiertes Material.

Durch die Anwendung dieser Kriterien lassen sich in Abb. 8 lymphoide Zellen und Monozyten elektronenmikroskopisch gut voneinander differenzieren.

2.4.1.3.5 Subpopulationen und Varianten der Sézary-Zellen

Lutzner et al. (115) unterschieden aufgrund zytogenetischer Studien - wie oben erwähnt - hyperdiploid-pseudodiploide (kleine) und hypo-hypertetraploide (große) Sézary-Zellen. Ultrastrukturell fanden sie die kleinen SC zwar auch tief eingebuchtet, aber weniger serpentinartig und cerebriform.

Bis jetzt gelang aber mit ultrastrukturellen Mitteln allein kein überzeugender Nachweis, daß zwei oder mehrere Subpopulationen der SC beim SS existieren.

Edelson et al. (50) beschrieben eine "dritte Variante" der Sézary-Zelle:

Sie entspricht in der Größe einem kleinen Lymphozyt, ihr ovaler oder runder Kern besitzt jedoch eine fast glatte Begrenzung. Das reichlich vorhandene Zytoplasma enthält zahlreiche Organellen (Golgiapparat, rauhes endoplasmatisches Retikulum und Mitochondrien). Oft werden zytoplasmatische Ausläufer und Uropoden gefunden.

Etwa 50 % dieser zirkulierenden lymphoiden Zellen bilden sowohl T- als auch B-Lymphozyten-Marker aus.

Wahrscheinlich handelt es sich hier um eine besondere Form einer chronischen lymphatischen Leukämie, die sich aufgrund der Zellmorphologie vom SS abgrenzen läßt.

Die lymphoiden Blutzellen bei einer B-CLL unterscheiden sich von normalen Lymphozyten durch ihre höhere Kernplasmarelation und ihren nur selten kleine Einbuchtungen aufweisenden Kern (108, 153).

Leukämische T-Lymphozyten bei einer CLL weisen eine stärkere Kernirregularität als normale Lymphozyten, aber eine geringere als die SC auf (142).

2.4.1.3.6 Ultrastrukturelle Klassifikation der Sézary-Zellen durch den Nuclear contour index (NCI)

Schwierigkeiten erwachsen bei der Beschreibung der besonderen Kernform der SC dadurch, daß die Zahl und die Tiefe der Kerneinfaltungen nur ungenau beschrieben werden konnte. Dieses Problem wurde erst durch Litovitz und Lutzner (108) gelöst, die dafür den von Schrek (153) erfundenen Nuclear contour index (NCI) benützten.

$$\text{NCI} = \frac{\text{Kernumfang}}{\sqrt{\text{Kernfläche}}}$$

Da mit der Wurzel aus der Fläche gerechnet wird, erhält der NCI keine Benennung, ist also unabhängig von der Größe des gemessenen Kerns. Deshalb können Kerne unterschiedlicher Größe oder Vergrößerung problemlos miteinander verglichen werden.

Den kleinsten Wert erhält der NCI für einen Kreis: bei dieser geometrischen Figur ergibt sich für eine vorgegebene Fläche der kleinste Umfang:

$$\begin{aligned} \text{Kreisfläche} &= r^2\pi \\ \text{Kreisumfang} &= 2r\pi \\ \text{NCI} = \frac{2r\pi}{\sqrt{r^2\pi}} &= \frac{2r\pi}{r\sqrt{\pi}} = \frac{2\pi}{\sqrt{\pi}} = \frac{2\sqrt{\pi}\cdot\sqrt{\pi}}{\sqrt{\pi}} = 2\sqrt{\pi} \approx 3,54 \end{aligned}$$

Je mehr Einbuchtungen der Zellkern besitzt, desto größer wird sein Umfang, wogegen die Kernfläche abnimmt.

Daraus folgt: Der NCI steigt mit der Zahl und der Tiefe der Kerneinbuchtungen an.

Die Abbildungen 4 - 11 zeigen dies deutlich: Je mehr Kerneinfaltungen die Zellen besitzen, desto höher steigt ihr NCI. Falls der Zellkern in zwei oder mehrere Segmente zerfällt (wie z.B. in Abb. 6), müssen zur Berechnung des Gesamt- NCI die Flächen und Umfänge der einzelnen Kernteile getrennt addiert werden und erst dann läßt sich der Gesamt- NCI ermitteln.

Wird eine Kerneinfaltung im Schnitt so getroffen, daß sie allseits von Kernmaterial umgeben ist (wie z.B. in Abb. 4), läßt sich trotzdem ein NCI berechnen:

Der Umfang des "Zytoplasmaeinschlusses" wird zum Kernumfang addiert, seine Fläche von der Kernfläche abgezogen und von den dadurch ermittelten Werten wird der Gesamt-NCI bestimmt.

1974 wurde die Kernfläche noch mühsam mit dem Planimeter gemessen, so daß diese gute Methode in Vergessenheit geriet, bis Meijer et al. (123) sie wieder aufgriffen, weil es jetzt möglich wurde, den NCI halbautomatisch festzustellen.

Eine weitere Technik, die Zahl und Einbuchtungen des Zellkerns genauer zu beschreiben, stellt der "index of infolding" (IF) dar (53).

Um den IF eines Kerns zu messen, wird ein Linienmuster über den Kern gelegt und die Schnittpunkte zwischen den Linien und der Kernbegrenzung werden gezählt.

Zusätzlich wird um den Kern noch eine glatte Linie gezogen. Der IF ergibt sich aus dem Quotienten der Zahl der Schnittpunkte des Linienmusters mit dem Kernumfang und der Zahl der Schnittpunkte des Linienmusters mit der neugezogenen glatten Kernbegrenzung.

Für einen Kreis oder eine Ellipse ergibt sich der Idealwert 1, je mehr Einbuchtungen ein Kern besitzt, desto größer wird der IF.

Multiplikation des IF mit 3,54 ergibt eine Zahl in der Nähe des NCI.

Der Vorteil des IF ist seine schnelle und einfache Meßbarkeit, er unterschätzt jedoch die Kerneinfaltungen, falls nicht sehr dichte Linienmuster verwandt werden.

Der halbautomatisch bestimmte NCI liefert bessere Werte als der IF.

Mit Hilfe des NCI kann exakt eine Grenze, ab der eine lymphoide Zelle als Sézary-Zelle anzusehen ist, angegeben werden:

Meijer et al. (123) bezeichnen eine Zelle, deren Kern einen NCI größer als 6,5 besitzt, als Sézary-Zelle (Abb. 4 - 7).

Der NCI läßt sich bis heute nur anhand elektronenmikroskopischer Aufnahmen bestimmen, so daß er nur auf ultrastruktureller Basis benützt werden kann.

2.4.2 Vorkommen der Sézary-Zelle

2.4.2.1 Sézary-Syndrom

SC werden beim SS nicht nur im Blut, sondern auch in der Haut (13, 31, 50, 113, 114, 150), im Lymphknoten (31, 50, 113, 174, 175) und bei entsprechender Krankheitsausbreitung auch in viszeralen Organen gefunden. Berichte über den Befall folgender Organe liegen vor:
Lunge, Mundschleimhaut, Oesophagus, Zunge, Magen, Niere, Blase, Hoden, Endokard (50), Knochenmark (50, 70, 78, 109).

Über SC in der Aszitesflüssigkeit (183) und in gastrointestinalen Biopsien (37) von SS- Patienten wird berichtet.

2.4.2.2 Mycosis fungoides

Auch hier werden SC im Blut (20, 35, 126, 139, 177, 201, 202), in der Haut (13, 20, 63, 114, 121, 135, 139, 150, 173, 178), im Lymphknoten (20, 135, 139, 175) und in viszeralen Organen beobachtet.

Geordnet nach absteigender Häufigkeit sind folgende Organe beteiligt:

Lunge, Milz, Leber, Niere, Schilddrüse, Pankreas, Knochenmark und Herz.

Praktisch jedes Organ und jedes Gewebe kann infiltriert werden (135).

Auch im Liquor cerebrospinalis können bei der MF SC vorkommen (32, 71, 89, 112, 199).

In letzter Zeit wurden Beteiligungen des ZNS, der Augen, des Mastoids und des Mittelohres (89, 112, 129, 199), der langen Röhrenknochen (65, 89) und massiver Lungenbefall (85, 106) bei systemischer MF beschrieben.

Hood et al. (77) berichteten über einen Fall von MF mit Erstmanifestation als Kehlkopftumor.

Die erste Beschreibung einer MF des Zahnfleisches (40) und die 17. der Mundschleimhaut (103) wurden mitgeteilt (198).

2.4.2.3 Sonstige Vorkommen der Sézary-Zellen

SC werden unabhängig von ihrer Quantität auch bei einigen weiteren Gelegenheiten beobachtet.

Näheres ist Tabelle IV zu entnehmen.

Tabelle IV: Vorkommen der Sézary-Zelle außerhalb der Mycosis fungoides und des Sézary-Syndroms

Personengruppe	Nachweis- methode 1)	Autoren
<u>a) Blut</u>		
Gesunde	EM	Meijer et al. 1977 (122)
	EM	van der Loo et al. 1981 (176)
	EM	van der Loo et al. 1981 (177)
	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
Nabelschnurblut	EM	Hamburg et al. 1976 (69)
	EM	Meijer et al. 1977 (122)
PHA stimulierte normale Lymphozyten	EM	Yeckley et al. 1975 (196)

Tabelle IV: Vorkommen der Sézary-Zelle außerhalb der
(Forts.) Mycosis fungoides und des Sézary-Syndroms

Personengruppe	Nachweis- methode 1)	Autoren
<u>a) Blut</u>		
PWM stimulierte nor- male Lymphozyten	EM	Yeckley et al. 1975 (196)
PHA stimulierte nor- male Lymphozyten	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
EBV infizierte Kultur normaler Lymphozyten	EM	Noguchi und Robinowitz 1976 (127)
aktinisches Retikulum	EM	Johnson et al. 1979 (86)
Erythrodermie bei Psoriasis	EM	van der Loo et al. 1981 (177)
exfoliative Psoriasis	LMBA	Duncan und Winkelmann 1978 (47)
atopische Dermatitis	EM	van der Loo et al. 1981 (177)
	LMBA	Duncan und Winkelmann 1978 (47)
Kontaktdermatitis	LMBA	Duncan und Winkelmann 1978 (47)
Pseudolymphom nach Diphenylhydantoin	EM	Rosenthal et al. 1982 (140)
<u>b) Lymphknoten (LK)</u>		
LK-Zellsuspension bei dermatopathischer Lymphadenitis (DL) und keinen Lymphomen	EM	van der Loo et al. 1981 (177)
LK bei gutartigen Haut- erkrankungen und DL	EM	Guccion et al. 1979 (66)
<u>c) Haut</u>		
gutartige chronische Hauterkrankungen (nicht näher bezeichnet)	EM	Guccion et al. 1979 (66)
	EM	Mc Nutt und Crain 1981 (121)
Patch-Test-Reaktion	EM	Meijer et al. 1977 (122)
	SD	Schmoeckel et al. 1979 (150)
Kulturen normaler Haut	LM	Flaxman et al. 1974 (60)

Tabelle IV: Vorkommen der Sézary-Zelle außerhalb der
(Forts.) Mycosis fungoides und des Sézary-Syndroms

Personengruppe	Nachweis- methode 1)	Autoren
<u>c) Haut</u>		
solare Keratose	EM	Flaxman et al. 1971 (59)
Basaliom	EM	Flaxman et al. 1971 (59)
Lichen planus	EM	Flaxman et al. 1971 (59)
	EM	Lutzner et al. 1971 (114)
	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
Lupus erythematoses	EM	Flaxman et al. 1971 (59)
unspezifische Vasku- litis	EM	Flaxman et al. 1971 (59)
Psoriasis	EM	Flaxman et al. 1971 (59)
	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
	SD	Schmoeckel et al. 1979 (150)
Pyoderma gangraenosum	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
Kontaktdermatitis	EM	Meijer et al. 1977 (122)
	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
	SD	Schmoeckel et al. 1979 (150)
atopische Dermatitis	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
	LM	Lefebber et al. 1981 (105)
Chronisches Ekzem	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
Morbus Jessner	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
Erythrodermie bei Pity- riasis rubra pilaris	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
Insektenstichreaktion	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
Pseudolymphom	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
(Spiegler-Fendt)		
aktinisches Retikuloid	EM	Johnson et al. 1979 (86)
Lymphomatoide Papulose	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
Parapsoriasis à grandes plaques	EM	Lutzner et al. 1971 (114)
	EM	Schmoeckel et al. 1979 (150)
	LM	Lefebber et al. 1981 (105)

Tabelle IV: Vorkommen der Sézary-Zelle außerhalb der
(Forts.) Mycosis fungoides und des Sézary-Syndroms

Personengruppe	Nachweis- methode 1)	Autoren
<u>c) Haut</u>		
Pseudolymphom nach Diphenylhydantoin	LM	Rosenthal et al. 1982 (140)
pagetoide Retikuloze	EM	Braun-Falco et al. 1977 (13)
Parapsoriasis à petites plaques	EM	Lutzner et al. 1971 (114)
	EM	Schmoeckel et al. 1979 (150)
Retikulumzellsarkom	EM	Lutzner et al. 1971 (114)
 <u>d) Sonstige</u>		
Synovialflüssigkeit bei chronischer Polyarthritits	EM	van Leeuwen et al. 1976 (181)
	EM	van der Loo et al. 1981 (178)
Synovialmembran bei chronischer Polyarthritits	EM	de Vries et al. 1977 (43)

1) Zeichenerklärung

EM = Elektronenmikroskopisch

LMBA= Lichtmikroskopisch im Blutaussstrich

SD = Lichtmikroskopisch im Semidünnschnitt

2.4.3 Bezeichnung der Sézary-Zellen

Weiter kompliziert wurden die Untersuchungen über die SC durch die vielen verschiedenen Bezeichnungen dieser Zellen durch die jeweiligen Autoren:

Mycosis-Zelle	20, 63, 114, 135, 170, 179
Sézary-like cell	60, 122, 127, 196
atypische (mononukleäre) Blutzellen	36, 57, 105, 181
cerebriforme mononukleäre Zellen	123, 174, 175, 177, 178
atypical moderately con- voluted lymphocyte (MDCL)	66
atypical markedly con- voluted lymphocyte (MKCL)	66
Lutzner-Zelle	107, 150

Die Mycosis-Zelle sollte weniger Einbuchtungen besitzen als die Sézary-Zelle und vor allem in Hautinfiltraten der MF vorkommen (20, 63, 114, 135, 170).

Durch ausgezeichnete ultrastrukturelle Untersuchungen zeigte van der Loo (174), daß hier die Unterschiede zwischen den Zellen der verschiedenen MF- Stadien mindestens genauso groß sind wie zwischen MF und SS.

Auch die Zellen, die unter den übrigen Bezeichnungen erwähnt wurden, weisen keine morphologischen Unterschiede zu der in den Kap. 2.4.1.1 und 2.4.1.3.1 beschriebenen Sézary-Zelle auf.

Guccion et al. (66) unterscheiden zwischen SC mit mäßig (MDCL) und sehr stark (MKCL) eingebuchteten Kernen.

Durch die Anwendung des NCI dürfte diese Trennung auf ultrastruktureller Basis überholt sein, da der NCI für jede Zelle exakt den Grad der Kerneinfaltung angibt und deshalb ein Kern durch seinen NCI noch besser charakterisiert werden kann.

Die MDCL besitzen etwa einen $\text{NCI} \geq 6,0$, die MKCL einen $\text{NCI} \geq 11,5$; dies ergibt sich aus der Messung des NCI bei Zellen, die den von Guccion et al. (66) beschriebenen Kriterien genügen.

2.4.4 Zirkulierende Sézary-Zellen

Über die Zahl der zirkulierenden SC im Blut beim SS, bei der MF, bei gutartigen Hauterkrankungen und bei Gesunden besteht große Unsicherheit.

Bis heute wurden sehr unterschiedliche Ergebnisse mitgeteilt, deren große Streuung nicht zuletzt auf die Anwendung vier verschiedener Untersuchungsmethoden (Ausstrich-Semidünnschnitt - Ultradünnschnitt - Ultradünnschnitt und NCI) beruhte.

In Tabelle V werden die publizierten Werte für die einzelnen Krankheitsgruppen und für gesunde Kontrollpersonen mit der genauen Bezeichnung der Untersuchungsmethode aufgeführt.

Mit Hilfe des NCI kann elektronenmikroskopisch die Zahl der Sézary-Zellen noch genauer angegeben werden, weil der NCI exakt zwischen Sézary-Zellen ($\text{NCI} > 6,5$) und den übrigen lymphoiden Zellen ($\text{NCI} \leq 6,5$) unterscheidet.

Wie die Tabelle V zeigt, liegen zwar sehr viele Befunde über die Zahl der SC beim SS vor, doch die meisten Autoren bewegen sich nur auf der Ebene des Lichtmikroskops. Deshalb ist entweder eine genaue ultrastrukturelle Analyse der zirkulierenden lymphoiden Zellen beim SS nötig oder wenigstens eine Untersuchung über die Verlässlichkeit der Blutausstrichuntersuchung erforderlich.

// Beides wird in der vorliegenden Arbeit
durchgeführt werden.

//

qualitative Studien

Autoren	Methode	Diagnose	Fallzahl	Ergebnis	
1979	LMBA	SS	19	18/18 Fällen	SC +
1981	LMBA	SS	50	21/50 Fällen	SC +
1974	LMBA	SS	--	in der Regel	> 50 % SC/WBC
1974	LMBA	SS	33	25/33 Fällen	> 40 % SC/L
1974	LMBA	SS	24	28/28 Fällen	> 13 % SC/WBC
1971	FM	SS	6	6/6 Fällen	SC +
1975	CM	SS	8	8/8 Fällen	SC +
1979	EM	SS	14	14/14 Fällen	SC +
1979	EM	SS	14	10/14 Fällen	MKCL +
1975	LMBA	MF	3	0/3 Fällen	SC +
1977	LMBA	MF (Plaque-Stadium)	9	3/9 Fällen	SC +
		MF (Tumor-Stadium)	11	4/11 Fällen	SC +
		MF (Erythrodermie)	6	6/6 Fällen	SC +
1979	LMBA	MF	27	2/27 Fällen	SC +
1980	LMBA	MF	90	6/90 Fällen	SC +
1981	LMBA	MF	9	3/9 Fällen	SC +
1981	LMBA	MF	198	1/198 Fällen	> 10 % SC/WBC
1971	EV	MF	16	6/16 Fällen	SC +
1975	EV	MF	12	4/12 Fällen	SC +
1979	EM	MF	25	11/25 Fällen	SC +
1979	EV	MF	25	1/25 Fällen	MKCL +

Tabelle V:
(Forts.)

Die Zahl der zirkulierenden Sézary-Zellen
bei verschiedenen Erkrankungen in der Literatur

a) qualitative Studien (Forts.)

Autoren	Methode	Diagnose	Fallzahl	Ergebnis
144) 1979	LMBA	Nicht-CTCL	14	0/14 Fällen SC +
131) 1980	LMBA	gutartige Hauterkrankungen (darunter 14 atopische Dermatitiden, 12 Psoriasis und 7 generalisierte Ekzeme)	40	0/40 Fällen SC +
114) 1971	EM	Pityriasis rubra pilaris	1	0/1 Fall SC +
115) 1973	LM	Sklerodermie	1	0/1 Fall SC +
	EM	Lupus erythematoses	1	0/1 Fall SC +
	EM	erythrodermatischer Pemphigus	1	0/1 Fall SC +

b) semiquantitative Studien

Autoren	Methode	Diagnose	Fallzahl	Ergebnis
203) 1976	EM	MF	22	9: < 10 % SC/L 10: 20-40 % SC/L 3: > 40 % SC/L
177) 1981	NCI	MF mit Lymphknotenbefall	11	in 9/11 Fällen > 20 % SC/L
	NCI	MF ohne Lymphknotenbefall	9	2-18 % SC/L

Tabelle V:
(Forts.)

Die Zahl der zirkulierenden Sézary-Zellen bei
verschiedenen Erkrankungen in der Literatur

quantitative Studien

Jahren	Methode	Dia- gnose	Fall- zahl	WBC	%SC/ WBC	SC/ µl	%SC/L
1961	LMBA	SS	7	10.400-27.600	15-58	1.560-13.900	42-49
1970	LMBA	SS	1	7.000-16.000	--	2.000-5.000	--
1972	LMBA	SS	3	15.000-24.800	11-58	2.200-14.400	31-97
1973	LMBA	SS	4	1.900-27.000	12-78	720-21.000	--
1974	LMBA	SS	25	3.000-76.900	4-90	280-62.000	41-59
1974	LMBA	SS	4	--	--	3.000-6.800	--
1975	LMBA	SS	5	17.300-140.000	30-73	7.200-100.000	72-90
1976	LMBA	SS	1	--	3-14	--	--
1979	LMBA	SS	8	6.100-51.000	2-40	130-12.800	14-53
1979	LMBA	SS	8	8.000-100.000	8-80	640-80.000	14-94
1980	LMBA	SS	2	8.400-9.600	7,5-20	720-1.680	--
1980	LMBA	SS	3	--	2,5-9,5	--	--
1981	LMBA	SS	9	5.300-29.200	8,5-80	2.650-26.500	50-100
1983	LMBA	SS	7	6.500-25.100	6,5-45,5	1.860-8.700	19,5-82
1974	EM	SS	8	7.000-65.000	1-48	60-23.000	2-72
1975	FM	SS	5	19.400-144.000	32-82	7.500-118.000	78-90
1980	EM	SS	8	--	--	--	9-95
1974	NCI	SS	2	--	--	--	41-69

Tabelle V: Die Zahl der zirkulierenden Sézary-Zellen bei
(Forts.) verschiedenen Erkrankungen in der Literatur

) quantitative Studien (Forts.)

Autoren	Methode	Dia- gnose	Fall- zahl	WBC	%SC/ WBC	SC/ /ul	%SC/L
125) 1977	LMBA	MF	26	--	--	0-150.000	--
201) 1974	EM	MF	8	6.400-	0-10	0- 650	0-35
126) 1980	EM	MF	27	--	--	--	1,7-98
177) 1980	NCI	MF	20	--	--	12- 1.200	2-45
47) 1978	LMBA	Kontakt- dermatitis	6	6.800- 12.700	0-11,5	0- 1.380	0-40
	LMBA	Psoriasis	3	5.900- 9.800	0- 4,5	0- 350	0-19
	LMBA	atopische Dermatitis	5	6.400- 16.700	0- 5	0- 580	0-20
193) 1980	LMBA	Lympho- sarkom	1	--	34	--	--
	LMBA	histio- zytisches Lymphom	1	--	2,5	--	--
	LMBA	CLL	1	--	2,5	--	--
140) 1978	LMBA	Pseudolym- phom nach Diphenylhydantoin	3	17.500- 24.000	11-13	1.800- 3.100	17-23
86) 1979	SD	aktini- sches Retikuloid	1	8.600	10	860	30

quantitative Studien (Forts.)

Autoren	Methode	Diagnose	Fall- zahl	SC/ ul	%SC/L
77) 1981	NCI	atopische Dermatitis (Erythrodermie)	1	225	15
76) 1981	NCI	Psoriasis (Erythrodermie)	2	90-100	10-16
22) 1977	SD	gesunde Normalpersonen	4	--	4
76) 1981	EM	gesunde Normalpersonen	6	--	3,2-13,3
08) 1974	EM	gesunde Normalpersonen	4	--	6-7
77) 1981	NCI	gesunde Normalperson	1	--	2
22) 1977	NCI	gesunde Normalpersonen	5	--	2-8
	EM	Nabelschnurblut	5	--	3,8-9,6

Erklärung

- + : Sézary-Zellen nachgewiesen;
- SC/WBC : %SC an der Gesamtzahl der weißen Blutzellen;
- SC/L : %SC an der Gesamtzahl der lymphoiden Blutzellen;
- SC : Zahl der Leukozyten (white blood cell count);
- /ul : absolute Zahl der SC/ul Blut;
- CL + : stark eingefaltete ($\hat{=}$ NCI $\gg$ 11,5) SC nachgewiesen (markedly convoluted Lymphocyte);
- BA : SC im Blutaussstrich nachgewiesen;
- : SC im Semidünnschnitt nachgewiesen;
- : SC im Elektronenmikroskop nachgewiesen;
- I : SC im Ultradünnschnitt mit Hilfe des NCI nachgewiesen;

Bei der MF dürften die verlässlichsten und exaktesten Befunde von van der Loo (174) stammen, die nachwies, daß zumindest ein kleiner Prozentsatz zirkulierender SC bei der MF immer zu beobachten ist.

Diese Ergebnisse erscheinen um so mehr als sehr verlässlich, da die ermittelten Werte mit Hilfe der exaktesten Nachweismethode (Elektronenmikroskopie und NCI) erzielt wurden.

Auch eine sehr große Zahl von MF-Fällen untersuchten elektronenmikroskopisch Myrie et al. (126). Sie wandten aber im Gegensatz zu van der Loo et al (177) nicht den NCI an.

Über den Prozentsatz von SC bei gutartigen Hauterkrankungen liegen noch wenige Ergebnisse vor. Sowohl die lichtmikroskopischen Werte Duncans und Winkelmanns (47) als auch die ultrastrukturellen van der Loos et al. (177) zeigen zumindest bei atopischer Dermatitis, Kontaktdermatitis und erythrodermatischer Psoriasis relativ hohe Werte an, die von manchen publizierten SS nicht erreicht werden (57, 70, 95).

// Ist es aber vielleicht doch möglich, mit ultrastruktureller Hilfe eine Differenzierung zwischen gutartigen chronischen Hauterkrankungen und SS mit noch niedrigen SC-Zahlen vorzunehmen ?

Werden die relativ hohen SC-Zahlen bei gesunden Kontrollpersonen ins Kalkül gezogen, so stellt sich auch die Frage, ab wieviel Prozent SC bei Vorliegen des typischen klinischen Befunds von einem SS gesprochen werden kann ?

In dieser Arbeit wird versucht, besonders auf die beiden letztgenannten Probleme durch eigene Untersuchungen befriedigend zu antworten. //

Winkelmann (189) erkannte diese Problematik schon sehr früh und führte für die Vermehrung der SC im Blut mehrere verschieden definierte Begriffe ein:

Er spricht von einem Pre-Sézary-Syndrom, falls zwar die klinischen Befunde auf ein SS hindeuten, aber noch niedrigere ($< 10\%$) SC-Werte vorkommen (191); tägliche Messun-

gen können dabei ab und zu schon über der 10 %- Marke liegen. In einer neueren Mitteilung legen Büchner und Winkelmann (22) die Grenze zwischen Pre-SS und SS bei 1000 SC/ μ l Blut fest.

Abzugrenzen vom Pre-Sézary-Syndrom ist das Sézary-Phänomen. Hierbei besteht eine Sézaryzytämie (mehr als 10 % SC), die bei MF oder vorübergehend bei Lymphomen wie zum Beispiel beim Morbus Hodgkin als reaktive Phase des Krankheitsprozesses bei Patienten mit oder ohne Erythrodermie vorkommen kann (189).

Als Ausweitung des SS versteht Winkelmann die T-Zell-Leukämie, bei der neben den typischen Symptomen des SS vor allem jetzt Knochenmarksinfiltration, hohe Leukozytenzahlen (mehr als 100.000/mm³), erhöhter BKS-Wert und Splenomegalie im Vordergrund stehen.

2.5 Histopathologie der Haut beim Sézary-Syndrom

Das histopathologische Bild der erythrodermatischen Haut beim SS ist grundsätzlich den Veränderungen bei der MF an die Seite zu stellen (28, 31, 76, 91, 116).

Vorstadien bieten oft nur das Bild einer superfiziellen perivaskulären Dermatitis. Deshalb sind für eine Verdachtsdiagnose in diesem Stadium klinische Angaben unerlässlich. Kriterien zur Erkennung früherer Läsionen sind der Nachweis eines wechselnd dichten perivaskulären oder lichenoiden dermalen Infiltrats aus überwiegend lymphoiden Zellen. Wichtig ist das Vorliegen einer größeren Anzahl lymphoider Zellen einzeln und in kleinen Nestern mit einem peripheren Hof (Halo-Zellen) in einer atrophischen oder psoriasiformen hyperplastischen Epidermis bei meist fehlender Spongiose.

Die endgültige lichtmikroskopische Diagnose basiert auf dem Nachweis dichter bandförmiger Infiltrate im oberen Korium mit Einwandern lymphoider Zellen in die Epidermis

Manchmal lassen sich aber auch relativ scharf begrenzte bandartige Infiltrate mit einem subepidermalen Grenzstreifen nachweisen.

Neben dem sogenannten T-Zell-Muster (30) kann das SS aber auch nicht selten durch mehr periadnexiell akzentuierte und um den oberen bzw. tiefen Gefäßplexus lokalisierte Infiltrate bei fehlendem Epidermotropismus gekennzeichnet sein (76, zitiert nach 91).

Unter den Infiltratzellen finden sich vor allem Lymphozyten, ferner atypische lymphoide Zellen (SC) und Histiozyten. Plasmazellen, eosinophile Granulozyten, Immunoblasten und Mastzellen sind in wechselnder Zahl beteiligt, so daß ein polymorphes Bild entsteht (28, 31, 179). Von großer Bedeutung ist der Nachweis atypischer lymphoider Zellen, die den oben beschriebenen Sézary-Zellen entsprechen (20, 91, 139).

Die Darstellung der SC gelingt bei Hautbiopsien besser in Semidünnschnitten (14, 114, 150, 179) als in den üblichen HE-gefärbten Routineschnitten.

Einzelne SC wurden auch bei verschiedenen gutartigen Hauterkrankungen nachgewiesen (siehe Tabelle IV).

Bedeutung erlangen die SC für die Diagnose einer MF oder eines SS nur dann, wenn sie in "clusters" oder "sheets" vorkommen (66, 139).

Als typisch für das SS wird ebenfalls der Nachweis "Pautrierscher Mikroabszesse" (atypische Lymphozyten liegen in epidermolytischen Hohlräumen) angesehen. Gelegentlich werden "Pautriersche Mikroabszesse" aber auch unter anderen Bedingungen beobachtet; zum Beispiel bei Retikulumzellsarkomen (93, 130) oder bei chronischen Dermatitis (1, 192).

Exozytose und "Pautriersche Mikroabszesse" sind beim SS seltener als bei der MF (91).

Verglichen mit der MF bietet das SS-Infiltrat ein eher monomorphes Bild (28, 31) und enthält weniger Histiozyten (91). Schmoekel et al. (150) wiesen auf den höheren Prozentsatz von SC im Vergleich zur MF beim SS in nicht-tumorösen Arealen hin.

Entwickeln sich Tumoren, so sinkt bei beiden Erkrankungen die Zahl der SC, dagegen erhöht sich der Anteil der Immunblasten im Hautinfiltrat (31, 52, 150). Van der Putte und van der Meer (179) stellten bei der Untersuchung von 66 Hautbiopsien von 19 MF-Patienten im Semidünnschnitt aufgrund morphologischer Kriterien (Zellgröße, Tiefe und Zahl der Kerneinbuchtungen, nukleäre Chromatinverteilung, Nukleolusstruktur) sieben verschiedene Infiltratzellen fest. Jedoch ähneln sie mit Ausnahme eines Teils der als Blasten bezeichneten Zellen alle mehr oder weniger entweder den Sézary-Zellen oder den normalen Lymphozyten.

Ultrastrukturell sind die Befunde bei der MF und dem SS weitgehend identisch (13, 150). Messungen der NCI-Verteilungen der lymphoiden Infiltratzellen ergeben keine signifikanten Differenzen; so lassen sich sowohl bei der MF als auch beim SS Sézary-Zellen mit sehr hohen NCI-Werten erkennen (178).

Mit dem Elektronenmikroskop sind auch Mitosen der SC in Hautinfiltraten zu beobachten (20, 50).

Mc Millan et al. (120) fanden in allen Hautinfiltraten der MF sowie zum Teil beim SS und der Parapsoriasis en grandes plaques Zellen, die mit dem gegen Transferrinrezeptoren gerichteten monoklonalen Antikörper OKT 9 reagierten.

2.6 Methoden zur Früherkennung von kutanen T-Zell-Lymphomen (CTCL)

Da histologische Kriterien für eine Frühdiagnose bei der MF und dem SS fehlen, sind zytophotometrische und morphometrische Verfahren möglicherweise nützlich.

Van Vloten et al. (182) erzielten mit Messungen des DNA-Gehaltes der lymphoiden Infiltratzellen (Zytophotometrie) bei der Unterscheidung zwischen Frühformen einer MF und gutartigen Hauterkrankungen eine Spezifität von 100 % und eine Sensitivität von 91 %.

Die Spezifität einer Methode wird definiert als das Verhältnis von richtig negativen Diagnosen zu der Summe der richtig negativen und falsch positiven Diagnosen (83). Sie ist also indirekt ein Maß für die Häufigkeit falsch positiver Diagnosen. Werden z.B. mit einer neuen Untersuchungsmethode 10 Hautbiopsien überprüft und 8 als unverdächtig, zwei jedoch als mit MF befallen, eingestuft und entwickelt sich in der Folgezeit bei keinem Patienten eine MF, so beträgt die Anzahl der richtig negativen Diagnosen 8 und die der falsch positiven 2. Somit ergibt sich eine Spezifität von 80 %, der Anteil der falsch positiven Diagnosen beläuft sich demnach auf 20 %.

Die Sensibilität gibt indirekt Aufschluß über die Zahl der falsch negativen Resultate. Sie läßt sich aus dem Verhältnis der richtig positiven Diagnosen zu der Summe der richtig positiven und falsch negativen Diagnosen ermitteln (83). Falls z.B. mit einer neuen Technik von 10 Hautbiopsien 7 als MF-Befall und 3 als unverdächtig eingestuft werden und in der Folgezeit alle 10 Patienten eine MF entwickeln, so ist die Zahl der falsch negativen 3 und die der richtig positiven 7; somit beträgt die Sensibilität 70 % oder anderst ausgedrückt: die Untersuchungstechnik produziert in 30 % der Fälle falsch negative Resultate.

Eine Methode mit hoher Sensibilität führt also zu einer kleinen Anzahl falsch negativer Resultate, ein Verfahren mit hoher Spezifität läßt wenige falsch positive Ergebnisse erwarten.

Van der Loo et al. (178) verglichen die Leistungsfähigkeit der zytophotometrischen mit der morphometrischen Methode, indem sie 29 suspekte Hautbiopsien in maligne (MF und SS) und gutartige einzuteilen versuchten.

Bei der morphometrischen Methode wird der NCI jeder lymphoiden Infiltratzelle auf elektronenmikroskopischen Bildern bestimmt. Durch vorhergehende Pilotstudien werden die NCI-Verteilungen der lymphoiden Zellen (Histogramme) bei sicher benignen und sicher malignen Fällen ermittelt und Kriterien gesucht, die eine optimale Differenzierung zwischen gutartig und bösartig erlauben.

Nach van der Loo et al. (178) ergeben sich die besten Unterscheidungen bei Hautinfiltraten, falls die Werte der 25. und 70. Perzentile (25. Perzentile: 25 % aller gemessenen Zellen haben einen kleineren oder den gleichen NCI wie die 25. Perzentile) und die Zahl der SC mit einem $\text{NCI} \geq 11,5$ verwandt werden.

Van der Loo et al. (178) erhielten mit diesen Kriterien eine Sensibilität von 95 % und eine Spezifität von 100 %, dagegen erreichte die gleichzeitig durchgeführte Zytophotometrie nur eine Sensibilität von 65 % bei einer Spezifität von 100 %. Mc Nutt und Crain (121) versuchten ebenso morphometrische Kriterien für eine Unterscheidung zwischen gutartigen Hauterkrankungen und der MF-SS-Gruppe zu erarbeiten. Sie erzielten jedoch nur eine Sensibilität von 50 % bei einer Spezifität von 97 %, was wohl nicht zuletzt auch auf die geringe Anzahl (etwa 50) der gemessenen Zellen zurückzuführen ist.

Werden zur Unterscheidung von Frühformen nur die Infiltratdichte und der Prozentsatz der atypischen Lymphozyten (SC) im Infiltrat herangezogen, so lassen sich in Dickschnitten keine für eine klare Diagnose ausreichende Differenzen feststellen (105).

2.7 Die Histopathologie des Lymphknotens bei kutanen T-Zell-Lymphomen

Sehr häufig bilden die vergrößerten Lymphknoten beim SS und der MF das Bild einer dermatopathischen Lymphadenitis (DL) (lipomelanotische Retikulozytose) (91, 174).

Dabei ist die parakortikale T- Zone oft so stark vergrößert, daß sie bis an die Kapsel des Lymphknotens reicht.

In diesen parakortikalen Bezirken befinden sich Retikulumzellen, Lymphozyten in geringer Zahl, Langerhans-Zellen und Immunoblasten.

Lassen sich darüber hinaus hier auch SC finden, ist zu unterscheiden zwischen einer DL und einer DL mit frühem spezifischem Befall.

Da eine DL auch bei gutartigen Dermatosen nachgewiesen werden kann, zeigt der Nachweis eines spezifischen Befalls jetzt sicher eine Krankheitsausbreitung über die Haut hinaus an.

Um einen frühen spezifischen Befall feststellen zu können, werden verschiedene Kriterien benützt:

Scheffer et al. (145) messen den Durchmesser der größten SC, van der Loo et al. (177) benützen den Mittelwert und die Standardabweichung der NCI- Verteilung der lymphoiden Zellen im Lymphknoten und einige weitere Autoren das Vorhandensein der SC in "clusters" (66, 131).

Tabelle VI: Klassifikation der Lymphknotenbefallmuster bei kutanen T-Zell-Lymphomen (nach Matthews und Gazdar (119))

LN-0	Keine atypischen Lymphozyten (AL) mit cerebriformen Kernen erkennbar
LN-1	Gelegentlich und isoliert AL vorhanden (nicht in "clusters")
LN-2	Viele AL, einzeln oder in 3 - 6 Zell- "clusters"
LN-3	AL in Haufen angeordnet (Lymphknotenarchitektur erhalten)
LN-4	Partielle oder totale Zerstörung der Lymphknotenstruktur durch AL oder neoplastische Zellen

2.8 Immunologische Befunde über die Sézary-Zellen

Die immunologischen Befunde beim SS variieren mitunter, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß verschiedene Krankheitsstadien untersucht wurden oder die Patienten bereits vorbehandelt waren (91).

Die menschlichen Lymphozyten lassen sich in B-Lymphozyten (im Äquivalent der Bursa Fabricii, beim Menschen wahrscheinlich im Knochenmark geprägt) und in T-Lymphozyten (Thymusgeprägte-Lymphozyten) unterscheiden (31).

Die T-Lymphozyten sind für viele zellvermittelte Immunreaktionen verantwortlich (Immunreaktion vom verzögerten Typ, graft-versus-host Reaktion, Transplantatsabstoßung und Tumorzellerkennung)(31).

Immunologisch zeigen die zirkulierenden T-Lymphozyten folgende Charakteristika:

- a) Sie bilden spontan Rosetten mit unbehandelten Schafserythrozyten (E-Rosetten) (14, 31, 87, 115, 132). Werden die Schafserythrozyten mit Neuramidase vorbehandelt, so bilden sich besonders stabile E-Rosetten. Der Anteil der rosettenbildenden Lymphozyten bleibt trotzdem fast unverändert (80).
- b) Mit spezifischen Anti-T-Zell-Sera sind T-Zell-spezifische Antigene auf der Zelloberfläche nachzuweisen (2, 31, 91, 116).
- c) Mit der Immunfluoreszenzmethode sind keine an der Zelloberfläche gebundenen Immunglobuline festzustellen (31, 57, 116, 174).
- d) Durch bestimmte pflanzliche Mitogene (PHA, Concavalin A (Con A), Pokeweed Mitogen (PWM)) wird die DNA-Synthese der T-Lymphozyten stimuliert. Dabei wirkt PWM auf B- und T-Lymphozyten (31, 41, 116).

u- Lymphozyten zeigen etwas andere Eigenschaften:

- a) Sie bilden Rosetten mit Complement (C_3) beladenen Erythrozyten, da sie C_3 - Rezeptoren besitzen (EAC-Rosetten) (9, 31, 116).
- b) Sie tragen auf der Zelloberfläche Immunglobuline, die mit der Immunfluoreszenzmethode nachzuweisen sind (31, 50, 116, 132, 134).
- c) Sie sind durch PWM stimulierbar (41).
- d) Sie besitzen Rezeptoren für das Fc-Fragment des Ig G, die sowohl mit radioaktiven Antigenen (6) als auch mit Fluoreszein beladenen aggregierten Ig G (45) nachgewiesen werden können (31).

Immunzytologische Untersuchungen von Blut (50, 57, 116, 144, 201, 202), Hautinfiltraten (25, 26, 30) und Lymphknoten (144) haben gezeigt, daß die SC sich in den meisten Fällen wie T-Lymphozyten verhalten (31, 91).

Tabelle VII zeigt eine Zusammenstellung der in der Literatur mitgeteilten Befunde über das immunologische Verhalten der SC, aus der hervorgeht, daß die meisten SC beim SS T-Zell-Eigenschaften aufweisen.

In einigen wenigen Fällen besitzen die SC überhaupt keine Zellmarker und werden dann als O-Zellen bezeichnet (1b, 61, 62).

Die T- und B- Zell-Eigenschaften ändern sich möglicherweise während einer zytostatischen Behandlung beim SS (98).

Bei den meisten dieser Untersuchungen wurden die immunologischen Eigenschaften der lymphoiden Zellfraktion studiert, in der ein hoher Anteil zirkulierender SC festzustellen war, und dann diese Ergebnisse auf die SC übertragen.

Aber auch ultrastrukturell könnte mit Hilfe von Peroxidase-konjugierter Anti-T-Zell-Sera die T-Zell-Natur der SC sowohl in der Haut (33, 148) als auch im Blut (202) nachgewiesen

Tabelle VII: Immunzytologische Untersuchungen der Sézary-Zellen beim Sézary-Syndrom (modifiziert nach Konrads et al. 1980 (97))

Autoren	T-Zell-Eigen- schaften	B-Zell-Eigen- schaften
Broome et al. 1973 (18)	+ (1)	- (1)
Brouet et al. 1973 (19)	+ (6)	- (6)
Edelson et al. 1974 (50)	+ (4)	- (7)
Flandrin und Brouet 1974 (57)	+ (10)	- (14)
Löffler et al. 1974 (109)	+ (1)	Ø
Zucker-Franklin 1974 (201)	+ (7)	- (8)
Braylan et al. 1975 (16)	- (3)	- (3)
Ding et al. 1975 (46)	+ (1)	- (1)
Goldstone et al. 1976 (61)	- (1)	- (1)
Hundeicker und Löffler 1976 (82)	+ (1)	Ø
Kövary et al. 1977 (94)	+ (1)	- (1)
Worman et al. 1978 (195)	+ (2)	- (2)
Konrads et al. 1980 (98)	-/+ (1)	+/- (1)

T-Zellen: E-Rosetten Test, Anti-T-Zell-Serum;

B-Zellen: EAC-Rosetten Test, Nachweis von Oberflächenimmun-
globulin aig;

(n): Anzahl der Patienten;

+: gesteigert;

-: vermindert;

Ø: nicht untersucht;

Die Fähigkeit zur Rosettenbildung scheint bei SC etwas schwächer als bei den normalen Lymphozyten zu sein (57). Dies ist vergleichbar mit der chronischen lymphatischen Leukämie, bei der die B-Marker gewöhnlich schwächer ausgeprägt sind (91).

Nach Burg et al. (30) bilden die Zellen aus Hautinfiltraten des SS in 42 bzw. 73 % Spontanrosetten und 98 % der Zellen zeigen Rezeptoren für Anti-T-Zellglobulin. Für sie weisen diese Unterschiede darauf hin, daß die SC nicht die Eigenschaften normaler Lymphozyten besitzen; denn sonst müßten sich die Prozentzahlen der beiden Techniken annähernd entsprechen (116).

Über die Stimulierbarkeit von SC mit pflanzlichen Mitogenen (PHA, PWM und Con A) liegen keine einheitlichen Ergebnisse vor:

Es finden sich sowohl Berichte über eine normale (41, 50, 115, 132, 201) als auch über eine herabgesetzte Stimulierbarkeit (16, 30, 50, 70, 78, 109, 116, 132, 201).

Im Laufe einer niedrig dosierten Chlorambuciltherapie ließ sich die mitogene Stimulierbarkeit mit PHA und Con A normalisieren (172).

Die Stimulierung mit PHA und PWM, nicht aber mit Con A, führte bei lymphoiden Blutzellen Gesunder zur Entwicklung von Sézary-Zellen (42, 196).

Sézary-Zellen zeigen keine Phagozytoseaktivität und keine adhäsiven Eigenschaften auf Glas und Kunststoff (57, 202).

Die T-Lymphozyten sind aufgrund von mit nur sehr verfeinerten Methoden aufzuspürender Rezeptoren für die Fc-Fragmente von Ig M und Ig G weiter zu differenzieren (162, 176): in solche mit einem Fc-Ig M-Rezeptor (T_H-Zellen) und Zellen, die einen Fc-Ig G-Rezeptor (T_S-Zellen) besitzen. Die T_H-Zellen werden als Helferzellen bezeichnet, da sie den B-Zellen die Immunglobulinsynthese ermöglichen, während die T_S-Zellen als Suppressorzellen eine gegenteilige Wir-

Waldmann beobachtete diesen Helfer-Effekt der SC bereits bei B- Zellen eines Patienten mit einer Hypogammaglobulinämie und einer starken Thymusinsuffizienz.

Nach In-vitro-Stimulation mit PWM und Kontakt mit SC konnten sich die B- Zellen zu Immunglobulin-sezernierenden Zellen entwickeln (nach (17) und (116)).

Nach van der Loo et al. (176) lassen sich die T_H- und T_F-Zellen auch durch ihr unterschiedliches histochemisches Verhalten und ihr morphologisches Erscheinungsbild unterscheiden:

Lichtmikroskopisch weisen die T_H- Zellen eine mittlere Größe von 10,2 μ m auf und zeigen eine "dot-like" Aktivität der α -Naphthylacetatesterase (α -NAE) und der sauren Phosphatase (sP).

Die durchschnittlich 12,1 μ m großen T_F-Zellen zeigen eine "scattered" oder keine Anfärbbarkeit mit α -NAE und sP. 50 % dieser Zellen besitzen azurophile Granula.

Ultrastrukturell sind in den T_H-Zellen als für die "dot-like" saure Phosphatase-Aktivität verantwortlichen Strukturen Lysosomen zu erkennen, die zwar nicht sehr zahlreich, aber immer in Haufen angeordnet sind.

Um den mitunter eingekerbten Kern befindet sich ein gering ausgeprägtes organellenarmes Zytoplasma, das auch lipid droplets enthalten kann (176).

Dagegen besitzen die T_F-Zellen mehr Lysosomen, die für die evtl. vorhandene Aktivität der sauren Phosphatase verantwortlich sind.

Der oft exzentrisch liegende und weniger eingebuchtete Kern ist von reichlich Zytoplasma mit mehr Organellen umgeben: vor allem sind Mitochondrien und das endoplasmatische Retikulum zahlreicher.

Auffallend viele Mikrovilli gehen von der Zytoplasmaoberfläche aus (176).

Neben den T_H - und T_{H_u} -Zellen kommen beim Gesunden auch Zellen vor, die weder den Fc-IgM noch den Fc-IgG-Rezeptor ausbilden und deshalb als T_0 -Lymphozyten bezeichnet werden. Morphologisch und histochemisch ähneln sie entweder den T_H - (45 % davon) oder den T_{H_u} -Lymphozyten (40 % der Zellen).

15 % der T_0 -Zellen weisen Charakteristika beider Zelltypen auf (176).

Die Sézary-Zellen bei Gesunden gehören entweder der T_0 - oder der T_{H_u} -Fraktion an. Damit ist bewiesen, daß zumindest bei gesunden Personen die Sézary-Zellen zum Teil eine Helfer-Funktion besitzen (176).

Beim Sézary-Syndrom wurde neben der Vermehrung von Helferzellen im Blut (17, 116, 195) auch von mehreren Autoren eine Erhöhung der Suppressor-Zellen (68, 88) unter den Lymphozyten gefunden.

Gupta et al. (68) berichteten auch von SC, die weder Fc-IgM- noch Fc-IgG-Rezeptoren exprimierten. Eine solche Fraktion der SC läßt sich auch im Blut von Gesunden nachweisen (176).

Mit Hilfe von Peroxidase-konjugierten monoklonalen Antikörpern gegen Helfer-Zellen konnten ultrastrukturell die SC als T_{H_u} -Lymphozyten identifiziert werden (149).

Die In-vitro-Wanderung zirkulierender lymphoider Zellen beim SS und bei Kontrollen untersuchten Larache et al. (102). Nur die lymphoiden Blutzellen beim SS wanderten zu normaler allogenetischer Haut. Diese Wanderung war organspezifisch und erforderte die Unversehrtheit der Membranrezeptoren. Serumfaktoren waren nicht beteiligt. Die wandernden lymphoiden Zellen gehörten wahrscheinlich zu den T-Helfer-Zellen.

2.9 Nosologie

Das Sézary-Syndrom, das früher als erythrodermatische Retikulose (156) angesehen wurde, gilt heute als kutanes T-Zell-Lymphom (14, 27, 52, 91, 116, 146, 198).

Von den meisten Autoren wird das Sézary-Syndrom als leukämische Variante der Mycosis fungoides angesehen (16, 31, 35, 38, 95, 109, 110, 116, 133, 146).

Für diese Ansicht führt Kerl (91) folgende Gründe an:

- a) Eine klassische MF kann in ein SS übergehen. Umgekehrt treten im Rahmen einer Erythrodermie (mit und ohne leukämischem Blutbild) nicht selten mykoides Plaques und Tumoren auf.
- b) Die histologischen und elektronenmikroskopischen Veränderungen an Haut, Lymphknoten und viszeralen Organen sind weitgehend identisch. Knochenmarksinfiltration wird bei beiden Krankheiten relativ selten beobachtet.
- c) Die nahe Verwandtschaft stützt sich vor allem auch auf viele gemeinsame zytologische Aspekte der Tumorzellen des SS und der MF. Auch wurden bei der MF mitunter sehr zahlreich elektronenmikroskopisch zirkulierende SC nachgewiesen (126, 201, 203).

Neben diesen vielen Gemeinsamkeiten dürfen aber nicht die Unterschiede zwischen diesen beiden kutanen T-Zell-Lymphomen übersehen werden:

Klinisch bietet das SS eine generalisierte Erythrodermie, während im Plaque-Stadium der MF große Hautareale als nicht befallen erscheinen.

Allgemein erweist sich das SS auch als viel stärker therapierefraktär (198).

Winkelmann (189) sowie Winkelmann und Caro (192) interpretieren im Unterschied zu fast allen anderen Autoren das SS

und die Mycosis fungoides als "transitional lymphoreticular proliferation" der Haut, bei der eine spontane Heilung, ein chronisch-persistierender Verlauf oder der Übergang in ein malignes Lymphom beobachtet wird.

Für sie stellt das Sézary-Syndrom einen immunreaktiven Status mit einem malignen Potential dar, das durch eine angemessene Therapie kontrolliert werden könnte. Diese Hypothese wird durch den Nachweis von SC bei banalen Dermatosen und Gesunden, sowie unter PHA-stimulierten normalen Lymphozyten (siehe Tabelle IV) unterstützt.

Für Kerl (91) sowie für Burg und Braun-Falco (31) bewegt sich die pathogenetische-nosologische Diskussion auch heute noch immer zwischen einer primär entzündlichen oder einer primär neoplastischen Erkrankung, bei der vielleicht eine Evolution von langsam proliferierenden zu schnell proliferierenden Zellpopulationen eintritt.

Die Mehrzahl der Autoren ist allerdings doch der Ansicht, daß das Sézary-Syndrom eine maligne Erkrankung im Sinne eines primären kutanen T-Zell-Lymphoms darstellt (91).

2.10 Zusammenstellung der für diese Untersuchung gestellten Aufgaben

Trotz der schon über 40 Jahre zurückliegenden Erstbeschreibung der SC sind, wie schon oben ausführlich dargestellt, einige morphologische und quantitative Probleme noch immer ungelöst:

- a) Ab wieviel Kerneinbuchtungen kann eine lymphoide Zelle zu Recht als Sézary-Zelle angesprochen werden ?
- b) Welche Größe besitzen die Sézary-Zellen beim Sézary-Syndrom und der Mycosis fungoides im Ultradünnschnitt ?
- c) Ab wieviel Prozent zirkulierender Sézary-Zellen läßt sich die Diagnose eines Sézary-Syndroms bestätigen oder von der anderen Seite betrachtet, wieviel Prozent

Sézary-Zellen sind bei gutartigen Dermatosen oder gesunden Kontrollpersonen im Blut noch zu erwarten ?

- d) Gibt es morphologische Unterschiede bei den zirkulierenden Sézary-Zellen zwischen der Mycosis fungoides und dem Sézary-Syndrom, zwischen dem Sézary-Syndrom und gutartigen Dermatosen oder gar zwischen den zirkulierenden SC bei den SS ?
- e) Mit welcher Untersuchungstechnik sind die zirkulierenden Sézary-Zellen verlässlich zu erkennen?
Reicht die Ausstrichbetrachtung bereits aus oder sind aufwendigere Methoden (Semidünnschnitt und Ultradünnschnitt) unumgänglich ?
Steht die höhere Genauigkeit der ultrastrukturellen Methode überhaupt noch in einem vertretbaren Verhältnis zu dem dafür erforderlichen Aufwand ? Oder liefert die Semidünnschnittuntersuchung annähernd die gleichen Werte ?

3.0 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Patientengut

Insgesamt wurden 37 Blutproben von 32 Personen untersucht. Um genaue Aussagen über den Prozentsatz der zirkulierenden Sézary-Zellen beim Sézary-Syndrom treffen zu können, wurden dafür nur SS ausgewählt, die bereits vor der ultrastrukturellen Analyse der Lymphozytenkerne wegen des typischen klinischen und histologischen Bildes eindeutig als SS zu diagnostizieren waren. 8 Patienten erfüllten diese Voraussetzungen, wobei bei einem SS (FG) vier und bei einer weiteren SS-Patientin (LK) zwei Blutproben im Abstand von jeweils drei Monaten untersucht wurden.

Drei Patienten (WL, HS und KB) waren klinisch für ein SS suspekt, eine eindeutige Diagnose konnte jedoch ohne ultrastrukturelle Lymphozytenuntersuchung nicht gestellt werden. Diese drei Fälle wurden zunächst im Sinne Winkelmanns et al. (191, 192) als Pre-Sézary-Syndrome interpretiert. Bei einem Pre-Sézary-Syndrom (KB) wurden innerhalb von fünf Monaten zwei Blutproben ausgewertet.

Da einerseits die Differentialdiagnose von frühen Sézary-Syndromen zu gutartigen Erythrodermien mitunter Schwierigkeiten bereiten kann, andererseits auch Sézary-Zellen bei gutartigen Hauterkrankungen im Blut beobachtet wurden, umfaßte das Untersuchungsprogramm auch acht Patienten mit sicher gutartigen Hauterkrankungen (6 davon mit einer Erythrodermie) und je eine Parapsoriasis à grandes plaques und Parapsoriasis à petites plaques.

Zur Kontrolle wurden auch drei gesunde Normalpersonen in die Studie miteinbezogen.

Besonders zum Vergleich der Leistungsfähigkeit der drei möglichen Untersuchungsmethoden (Blutausstrich - Semidünnschnitt - Ultradünnschnitt) wurde noch Blut von 7 MF-Fällen und von einem angioimmunoblastischen Lymphom untersucht.

Eine SS- Patientin (JS) und ein MF- Patient (FP) entwickelten Lymphome vom hohen Malignitätsgrad (JS: T-lymphoblastisches Lymphom; FP: T-immunoblastisches Lymphom). Kasuistiken von JS (92), FP (152) und die eines weiteren SS (LK) (186) wurden bereits publiziert. Von dem Fall FP wurde auch eine Haut- und eine Lymphknotenbiopsie morphometrisch untersucht.

3.2 Methoden

3.2.1 Herstellen von Semi- und Ultradünnschnitten der mononukleären Blutzellfraktion

20 ml Blut wird zu gleichen Teilen mit einer Ficoll-Iso-paque-Mischung ($d = 1,077$) 20 Minuten bei 500 g zentrifugiert (12).

Der weiße Ring, der sich zwischen Serum und Ficoll abgesetzt hat (siehe Abb. 12) und in dem sich die mononukleäre Blutzellfraktion befindet, wird abpipettiert, mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschüttelt und anschließend 2 x 15 Minuten bei 250 g zentrifugiert. Dieser Niederschlag (buffy coat) wird mit 1,5 % Glutaraldehyd bei Raumtemperatur fixiert und mit 1 % Osmiumtetroxid bei 4°C nachfixiert. Nach Dehydratation in Aethanol und Propylenoxid erfolgt die Einbettung in Epon 812 und DMP 30 nach Luft (111). Die erhaltenen Blöcke müssen zuerst bei - 30°C 24 Stunden polymerisieren, dann bei 60°C weitere 24 Stunden härten. Von einer Blutprobe erhält man meistens mehrere (in der Regel etwa 5 - 6) Blöcke.

Am Ultracut-Mikrotom Reichert wurden von den hergestellten Blöcken sowohl 0,5 bis 1, μ m dicke Semidünnschnitte als auch 0,03 μ m dicke Ultradünnschnitte für die Elektronenmikroskopie angefertigt.

Dabei empfiehlt sich die Auswahl des Blocks für den Ultradünnschnitt nach folgendem Schema: Zuerst werden von drei

Blöcken Semidünnschnitte hergestellt und, nachdem der beste ausgesucht wurde, werden von diesem die Ultradünnschnitte angefertigt.

Die Färbung der Semidünnschnitte erfolgt mit einer Mischung aus gleichen Teilen von 1 % Methylenblau, 1 % Borax und 1 % Azur.

Die Dünnschnitte werden zuerst mit gesättigtem Uranylacetat (6 %) in 50 % Alkohol 10 - 15 Minuten kontrastiert und dann mit 0,4 g% Gleicitrat für 10 Minuten verandelt.

3.2.2 Untersuchung und Auswertung der Semidünnschnitte

Die Semidünnschnitte eines Blocks liegen immer auf einem Objektträger.

Im besten Schnitt eines Objektträgers werden mit dem 100-Öl-Immersionsobjektiv 100 lymphoide Zellen aufgrund ihrer Kerneinbuchtungen differenziert.

Die meisten Autoren unterscheiden dabei zwischen SC, die, wie in Kap. 2.4.1.2 dargestellt, je nach Untersucher einen bestimmten Grad der Kerneinfaltungen besitzen müssen, und normalen Lymphozyten (1b, 6b, 122, 12b, 150, 202).

Um die Lymphozytenpopulation hinsichtlich der Kerneinbuchtungen im Semidünnschnitt genauer beschreiben zu können, unterteilten wir die "Nicht-Sézary-Zellen in zwei Gruppen: normale Lymphozyten und Übergangslymphozyten.

Dabei sollen folgende NCI-Bereiche für die einzelnen Zellarten gelten:

- a) Normale Lymphozyten ($3,54 \leq \text{NCI} \leq 5,0$)
- b) Übergangslymphozyten ($\text{ÜL: } 5,0 < \text{NCI} \leq 6,5$)
- c) Sézary-Zellen ($\text{SC: } \text{NCI} > 6,5$)

Bei einer Pilotstudie wurden vorher 155 Zellen auf elektronenmikroskopischen Bildern nach der Zahl und Tiefe ihrer Kerneinbuchtungen in 12 Untergruppen eingeteilt und anschließend ihr NCI bestimmt (siehe Tabelle VIII).

Tabelle VIII: Zusammenhang zwischen der Zahl und Tiefe der Kerneinbuchtungen mit dem NCI bei 155 Zellen eines SS (GK)

Klasse	Untergruppen	Zahl der Kerneinbuchtungen	Tiefe der Kerneinbuchtungen (in Anteile am Kerndurchmesser)	NCI- Bereich
	1	1	$< 1/4$	$NCI \leq 4,5$
	2	1	$< 1/2; > 1/4$	$4,3 < NCI < 4,9$
	3	2	$\approx 1/4$	$4,3 < NCI < 5,0$
I	4	1	$> 1/2; < 7/8$	$4,9 < NCI < 5,9$
I	5	1 und 2	$< 7/8$ $< 1/4$	$6,0 < NCI < 6,5$
I	6	2	$> 1/4; < 1/2$	$5,0 < NCI < 6,2$
I	7	3-4	$\approx 1/4$	$4,9 < NCI < 5,2$
I	8	2	$> 1/3; < 1/2$	$5,4 < NCI < 6,3$
II	9	> 2	$> 2/5$	$7,0 < NCI < 8,7$
II	10	2	$> 1/2$	$6,6 < NCI < 7,5$
II	11	1 und 2	$> 7/8$ $> 1/4$	$6,4 < NCI < 8,6$
II	12	6	$> 1/4$	$NCI > 6,5$

Erklärung:

Die Zellen der Untergruppen 1 - 3 sind den normalen, die der Untergruppen 4 - 8 den Übergangslimphozyten und die der Untergruppen 9 - 12 den Sézary-Zellen zuzuordnen.

Die oberen Werte des NCI in Klasse III ergeben sich nicht durch Definition, sondern können bei stärker eingebuchteten Kernen, als es bei diesem SS der Fall war, noch höher sein.

Mit gewissen Überlappungen, die bei einer solchen Einteilung nie ganz zu vermeiden sind, lassen sich folgende Kriterien für die 3 Klassen lymphoider Zellen aus Tabelle VIII ermitteln:

a) Normale Lymphozyten (NL):

Werden alle Kerneinbuchtungen zusammengezählt, erreicht ihre Tiefe maximal den halben Kerndurchmesser.

b) Übergangslimphozyten (ÜL):

Die Summe aller Einbuchtungen erreicht maximal das 1,5fache des größten Kerndurchmessers.

c) Sézary-Zellen (SC):

Die Summe aller Kerneinbuchtungen muß mehr als das 1,5fache des größten Kerndurchmessers betragen.

Die Abb. 4 - 11 zeigen typische Vertreter der Sézary-Zellen, Übergangslimphozyten und normalen Lymphozyten auf ultrastrukturellen Aufnahmen. Sie sind aufgrund der oben angeführten Kriterien auch ohne Kenntnis des NCI unterscheidbar. Wird ein Kern in zwei Segmente zerlegt, so zählt der größte Durchmesser des kleineren Teils als Einbuchtungstiefe (siehe Abb. 15).

Diese Einteilung in drei Klassen ist sicher ungenauer als eine Differenzierung mit Hilfe des NCI, aber der NCI läßt sich nur anhand elektronenmikroskopischer Aufnahmen ermitteln.

Beim Semidünnschnitt wurden meistens drei Objektträger oder mindestens 300 lymphoide Zellen pro Blutprobe ausgewertet.

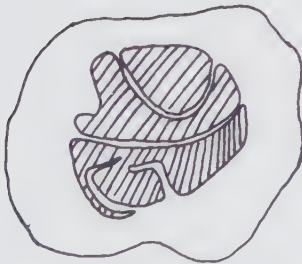
Die Kriterien zur Unterscheidung der lymphoiden Zellen von den Monozyten im Semidünnschnitt wurden in Kap. 2.4.1.2 angeführt.



Kerneinbuchtung kleiner als 0,5 des Kerndurchmessers, also normaler Lymphozyt



Kerneinbuchtung größer als 0,5 und kleiner als 1,5 des größten Kerndurchmessers, also Übergangslymphozyt



Kernspaltung zählt als 1 Einbuchtung in Tiefe des maximalen Kerndurchmessers. Mit den anderen Einbuchtungen zusammen gerechnet, ergibt sich eine Einbuchtungstiefe, die größer als 1,5 des maximalen Kerndurchmessers ist, also Sézary-Zelle

Abb. 13: Zelleinteilung bei Aufspaltung des Zellkerns in zwei Segmente im Semidünnschnitt

3.2.3 Untersuchung und Auswertung der Ultradünnschnitte

Mit dem Zeiss Elektronenmikroskop EM9 wurden immer mehr als 100, meistens zwischen 150 und 200 lymphoide Zellen, bei einer Endvergrößerung von 4025 fotografiert (bei 37 Proben etwa 6000 Zellen auf 2000 Bildern).

Um eine zweimalige Erfassung der gleichen Zelle zu vermeiden, wurden besonders große Ultradünnschnitte angefertigt, die normalerweise jeweils mehr als 200 lymphoide Zellen enthielten. Da meistens mehrere große Schnitte auf einer Blende lagen, wurde der beste und größte ausgewählt und dann fortlaufend fotografiert.

Mit Kontron MOP-AM 03 wurde die Kernfläche und der Kernumfang der einzelnen lymphoiden Zellen bestimmt und mit Privileg 583D-E der NCI jeder Zelle aus diesen beiden Werten errechnet.

Von den NCI-Verteilungen wurden Histogramme erstellt (einige charakteristische enthalten die Abb. 17a-j), ferner der Mittelwert, die 25. und 70. Perzentile (P_{25} ; P_{70}) sowie der Prozentsatz der Zellen mit einem $NCI \leq 5,0$ (normale Lymphozyten) (NL), mit einem $5,0 < NCI \leq 6,5$ (Übergangslymphozyten) (ÜL) und einem $NCI > 6,5$ (SC) für jede Probe bestimmt.

Zusätzlich wurden alle auf den Blenden befindlichen Ultradünnschnitte nach besonders stark eingefalteten Kernen durchsucht und diese Zellen wurden unabhängig von der kontinuierlichen Erfassung des besten Ultradünnschnitts fotografiert, um die SC der Blutprobe mit dem größten NCI (NCI_{max}) zu ermitteln.

Aus der Leukozytenzahl pro μ l Blut und dem Anteil der Lymphozyten im Differentialblutbild konnte mit dem ultrastrukturell gefundenen Prozentsatz der SC unter den lymphoiden Zellen der Wert der SC/ μ l Blut errechnet werden.

Die Größe der SC wurde mit einem Lineal auf Fotos mit einer Endvergrößerung von 4025 bestimmt. Dabei wurde in Richtung der größten Zellausdehnung gemessen.

Bei den drei gesunden Normalpersonen wurden alle lymphoiden Zellen als Vergleichspopulation vermessen.

Statistische Verfahren (Chi-Quadratstest, 2-I-Statistik (falls beim Chi-Quadratstest die Erwartungswerte oder Fallzahlen zu gering waren) und eine Varianzanalyse mit nachfolgendem Scheffé-Test) wurden bei der Analyse der Größenverteilung der SC zwischen und innerhalb der einzelnen Krankheitsgruppen als Hilfsmittel verwandt.

Falls die Irrtumswahrscheinlichkeit P bei einem Test zwischen 0,05 und 0,01 liegt, ist das Ergebnis als statistisch auffällig zu werten; unterschreitet sie 0,01, gilt das Resultat als statistisch signifikant.

Bei einer Patientin mit SS (LK I) wurde von 700 Zellen der NCI berechnet, um die Schwankungsbreite für die Prozente der NL, ÜL und SC festzustellen, falls statt 700 siebenmal 100 Zellen gemessen würden.

Aus dem gleichen Grund wurden bei LK I auch 1100 lymphoide Zellen im Semidünnschnitt klassifiziert.

Ebenso wurde bei einigen Zellen mehrmals der NCI bestimmt, um die Reproduzierbarkeit des NCI zu testen.

3.2.4 Untersuchung und Auswertung der Blutaussstriche

Von 18 Patienten lag auch ein Pappenheim-gefärbter Blutaussstrich vor.

11 Ausstriche wurden entweder am gleichen oder nur einen Tag später als der buffy coat angefertigt.

Bei jedem Blutaussstrich wurde sowohl das Differentialblutbild als auch die Zahl der Sézary-Zellen unter 100 lymphoiden Zellen bestimmt.

Eine Zelle wurde dann als Sézary-Zelle angesehen, falls sie einer der folgenden Bedingungen genügte:

- a) Es sind eine sichtbare Kerneinbuchtung oder -faltung und eine Kerngyrierung, die zusammen länger als $3/4$ des Kerndurchmessers sind, vorhanden.
- b) Es ist keine sichtbare Kerneinbuchtung oder -faltung, aber eine Kerngyrierung, die länger ist als der Kerndurchmesser, festzustellen.

3.2.5 Vergleich der Untersuchungsmethoden

Mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten wurden die lichtmikroskopisch und elektronenmikroskopisch ermittelten Werte für die Sézary-Zellen, Übergangslymphozyten und normalen Lymphozyten miteinander verglichen.

Bei insgesamt 8 Patienten wurde vor der morphometrischen Analyse der elektronenmikroskopischen Bilder mit Hilfe der Kriterien für die Zelldifferenzierung im Semidünnschnitt - vor allem zur Überprüfung dieser - der Prozentsatz der SC, ÜL und NL im Ultradünnschnitt bestimmt. Auch die so ermittelten Werte wurden mit den morphometrisch erzielten verglichen.

4.0 ERGEBNISSE

4.1 Klinische, laborchemische und anamnestische Daten der Patienten

Bei allen untersuchten Fällen wurde die Diagnose klinisch gestellt und wo erforderlich auch histologisch bestätigt. Die Laborwerte, die klinischen Symptome und die Stadieneinteilung wurden möglichst zum Zeitpunkt der ultrastrukturellen Analyse der Lymphozyten (Synonyme: buffy coat, Blutuntersuchung) festgehalten.

Die Stadieneinteilung der MF- und SS- Patienten erfolgte entsprechend einer leicht modifizierten Klassifikation nach Kerl (91) (siehe Tabelle IX).

4.1.1 Die Sézary-Syndrom-Patienten

Wie bereits in Kap. 3.1 erwähnt, wurden in diese Gruppe nur solche Fälle aufgenommen, die auch ohne ultrastrukturelle Blutuntersuchung aufgrund der charakteristischen klinischen und histologischen Befunde als Sézary-Syndrom zu diagnostizieren waren, um genaue Aussagen über den Prozentsatz der zirkulierenden Sézary-Zellen beim SS treffen zu können.

Die Tabellen X und XI zeigen die klinischen und anamnestischen Angaben (als erstes aufgetretenes Symptom, Zeitspanne zwischen Erstmanifestation und Diagnosestellung bzw. ultrastruktureller Analyse der Lymphozyten, Therapie vor und Krankheitszeichen zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung), die Stadieneinteilung und das weitere Schicksal der 8 SS- Patienten.

Einige Laborwerte der gleichen Fälle (BKS, Hb, Erythrozyten Thrombozyten, Leukozyten, Differentialblutbild und Prozentsatz der PAS-positiven Zellen im Blutaussstrich) gibt Tabelle XII wieder.

Aus Tabelle XI ergibt sich ein Geschlechtsverhältnis von 5:3 Frauen:Männer. Als Mittelwert des Alters bei Diagnosestellung läßt sich 71,9 Jahre angeben. Es dauerte durchschnittlich vier Jahre bis nach Auftreten des ersten Symptoms die Diagnose eines SS gestellt werden konnte. In vier von acht Fällen zeigte sich als frühestes Krankheitszeichen ein hartnäckiger Pruritus.

Zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung konnte bei drei Patienten (GS, GK und LL) bereits eine viszerale Mitbeteiligung nachgewiesen werden.

Bei JS wurde bereits ein halbes Jahr vor der ultrastrukturellen Analyse der Lymphozyten histologisch eine Umwandlung des Lymphoms vom niedrigen Malignitätsgrad in ein Lymphom vom höheren Malignitätsgrad (T- lymphoblastisches Lymphom) festgestellt. Der Anteil der Lymphoblasten in den Hautinfiltraten stieg dabei von 4 % auf 35 % der lymphoiden Zellen (92). Der Beobachtungszeitraum nach der Blutzellenuntersuchung betrug zwischen 0,1 und 4 Jahre. Von den acht SS- Patienten konnten sechs kontinuierlich überwacht werden.

Von diesen sechs Patienten starben vier innerhalb von 1 - 12 Monaten nach der Blutzellenuntersuchung. Bei diesen Fällen betrug die Krankheitsdauer vom Auftreten der ersten Beschwerden an zwischen 0,6 und fünf Jahre (im Durchschnitt 2,9 Jahre). Alle Todesfälle in dieser Gruppe wurden ursächlich durch das SS hervorgerufen. Die Sektionen enthüllten bei allen SS einen viszeralen Befall.

Der Hämoglobin (Hb)- Gehalt des Blutes lag bei keinem SS unter 12,0g / 100 ml. Die Thrombozyten waren bei zwei SS leicht vermindert. Bei zwei weiteren SS war die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS) leicht, bei einem stark erhöht.

Die Leukozyten schwankten zwischen 5.200 - 24.600 (Mittelwert 14.300), wobei in sieben Fällen eine Leukozytose (>10.000 Leukozyten / μ l) festzustellen war. Eine relative Lymphozytose (>40 % Lymphozyten im Differentialblutbild) fand sich bei 5, eine absolute Lymphozytose

(> 3.000 Lymphozyten/ μ l) bei 7 SS. Die Spannweite der Lymphozyten betrug 1.500 - 20.800 (Mittelwert 8.200/ μ l). Bei jeweils einem Patienten waren die stabkernigen bzw. die eosinophilen Granulozyten erhöht. Bei vier von den fünf SS, bei denen die Zahl der PAS-positiven Zellen im Blutausstrich bestimmt wurde, lag sie über 10 %.

Tabelle IX: Stadieneinteilung bei der Mycosis fungoides bzw. Sézary-Syndrom (modifiziert nach Kerl (91))

Stadium I	kutane Mycosis fungoides	a) Erythematöse und ekzematoide Läsionen b) Plaques und / oder Papeln c) Tumoren mit oder ohne Plaques oder Papeln d) Erythrodermie (= Sézary-Syndrom)
Stadium II	kutane Mycosis fungoides (a-c) bzw. Sézary-Syndrom (d)	+ periphere Lymphadenopathie
Stadium III	kutane Mycosis fungoides (a-c) bzw. Sézary-Syndrom (d)	+ spezifischer Befall der peripheren Lymphknoten
Stadium IV	kutane Mycosis fungoides (a-c) bzw. Sézary-Syndrom (d)	+ viszerale Manifestation (Lymphknoten, Milz, Leber, Lunge, Knochenmark u.a.)

Tabelle X: Anamnestiche und klinische Angaben sowie Stadieneinteilung bei acht Sézary-Syndromen und drei Pre-Sézary-Syndromen

Initialen und Geschlecht 1)	Alter 2)	frühestes Symptom 3)	weitere Symptome 3) 4) 5)	Stadien-einteilung (modif. nach Kerl (91)) 5)	Krankheitsdauer (in Jahren) bis zur Dia- gnosestellung	bis zur Bl untersuchung
GS	w	69	Erytheme SM, PRHK, Alopezie, Onychod., Conjuncti- vitis, FM	IV d	6	6
GH	m	79	Pruritus Exkoriationen, Conjuncti- vitis	III d	3	3
GK 8)	m	66,5	PRHK Onychod.	IV d	2	2,5
LKI 6)	w	60,5	Rhagaden PRHK, Onychod., Alopezie	III d	4	4
LKII	-	60,75	- PRHK, Onychod.	III d	-	4,25
FGI 7)	m	73	Pruritus -	III d	2	2
FGII	-	73,25	- -	III d	-	2,25
FGIII 8)-	-	73,5	- Exkoriationen	III d	-	2,5
FGIV	-	73,75	- PRHK	III d	-	2,75
BM 8)	w	73	Erytheme PRHK, Onychod., Alopezie, Ödeme	II d	14	14
JS 8)	w	76	Pruritus Ödeme, Hauttumoren	III d	2	3,25
LL	w	78	Pruritus Hauttumoren	IV d	0,3	0,3

Tabelle X:
(Forts.)

Anamnestische und klinische Angaben sowie Stadieneinteilung bei acht Sézary-Syndromen und drei Pre-Sézary-Syndromen

Initialen und Geschlecht 1)	Alter 2)	frühestes Symptom 3)	weitere Symptome 3) 4)	5)	Stadien-einteilung (modif. nach Kerl (91)) 5)	Krankheitsdauer (in Jahren)	bis zur Dia-gnosestellung	bis zur unter-suc
UL 8) 9)	m	70	Pruritus	ppHK, Exkoriatio-nen, sekundäre Pyodermien	(II d)	-	3,5	
KBI 9) 10)	m	70	Ekzem der Hand	11) ppHK	(II d)	-	0,4	
KBI 8)	-	70,4	-	11) Hyperpig-mentierungen	(II d)	-	0,8	
HS 8) 9)	m	80	Pruritus	Ödeme	(II d)	-	0,5	

1) m = männlich; w = weiblich

2) Bei Diagnosesstellung

3) Es bedeuten: ppHK: palmare - plantare Hyperkeratosen; Onychod.: Onychodystrophie; SM: Spleno-megalie; FM: follikuläre Muzinose.

4) Die Hauptsymptome (Erythrodermie, periphere Lymphadenopathie und Pruritus) wurden bei allen acht Sézary-Syndromen beobachtet und deshalb nicht eigens aufgeführt.

5) Zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung

6) Zweimalige ultrastrukturelle Analyse der Lymphozyten im Abstand von drei Monaten.

7) Viermalige ultrastrukturelle Analyse der Lymphozyten im Abstand von jeweils drei Monaten.

Tabelle X:
(Forts.)

Anamnestische und klinische Angaben sowie Stadieneinteilung bei acht
Sézary-Syndromen und drei Pre-Sézary-Syndromen

- 8) Bei diesen Fällen lag auch ein Blutaussstrich zur Untersuchung auf Sézary-Zellen vor.
- 9) Pre-Sézary-Syndrome
- 10) Zweimalige ultrastrukturelle Analyse der Lymphozyten im Abstand von fünf Monaten.
- 11) Von den drei klassischen Symptomen (Erythrodermie, periphere Lymphadenopathie und Pruritus) wurde Pruritus nicht beobachtet.

Tabelle XI: Therapie der Sézary-Syndrom- und Pre-Sézary-Syndrom-Patienten vor der Blutuntersuchung und weiterer Verlauf

Initia-	Therapie vor der Blut-	Beobachtungszeit-	Todesursache und Stadien-
len	untersuchung 1)	raum nach der Blutuntersuchung in Monaten	einteilung 4)
GS	--	1	--
GH	CS, Cyclophosphamid, Azathioprin	1	--
GK	CS, Ganzkörperbestrahlung mit schnellen Elektronen	1 2) 3)	Herz-Kreislaufversagen im protrohierten Schock IVd
LK I	Röntgenganzkörperbestrahlung	12 2) 3)	Lungenembolie IV d
LK II	Röntgenganzkörperbestrahlung	--	--
FG I	CS	24	--
FG II	CS	--	--
FG III	CS, Chlorambucil	--	--
FG IV	CS, Chlorambucil	--	--
BM	CS, Röntgenganzkörperbestrahlung, Resochin, Methotrexat	48	--
JS	PUVA, NH ₂ , COPP (CS, Vincristin, Cyclo- phosphamid, Procarbazin), Chlorambucil, Röntgenbestrahlung einzelner Herde	3 2) 3)	Herzstillstand im hyperkalzämischen Koma IV d
LL	--	4 2) 3)	Herzversagen bei Tumor- kachexie und rezidivier- ter Lungenembolie IV d
WL 5)	CS	30	--
KBI 5)	--	6	--
KBI 5)	--	1	--
HS 5)	--	12	--

der Blutuntersuchung

Init.	Ery. (Mill/ µl)	Hb (g %)	Thromb. (pro/µl)	BKS Leukoz. (pro/µl)	D i f f e r e n t i a l Stad- ker- nige	Neutro- phile	Baso- phile	Eosino- phile	Mon- ocyten	Lympho- zyten	% PAS + Zelle
GS	4,09	12,6	94.000	5/13 21.200	3	12	-	2	2	81	0
GH	3,97	12,6	196.000	40/62 10.900	-	61	1	-	5	33	16
GK	4,72	15,0	215.000	16/33 14.500	7	52	1	-	6	34	25
LKI	4,66	14,1	129.000	n.g.1)23.600	-	10	-	1	1	88	n.g
LKII	4,6	14,7	n.g.1)	n.g. 17.700	1	14	-	-	-	85	n.g
FGI	4,87	15,6	188.000	2/4 5.400	-	45	2	-	2	51	n.g
FGII	4,86	15,6	216.000	3/5 5.200	-	44	-	6	5	45	n.g
FGIII	4,45	14,2	220.000	8/15 5.900	2	69	-	2	2	25	16
FGIV	4,64	15,2	214.000	4/11 7.200	1	52	-	-	2	45	n.g
BM	5,21	14,8	196.000	10/23 16.200	1	37	1	1	3	57	25
JS	4,65	14,9	237.000	12/28 11.900	2	58	1	1	2	36	24
LL	4,16	13,3	101.000	6/19 13.200	1	53	-	-	-	46	n.g
WL2)	4,38	13,7	323.000	63/95 8.700	2	75	1	8	7	7	0
HBI 2)	4,09	13,2	335.000	n.g. 9.500	2	70	1	3	8	16	n.g
KBI 2)	3,85	12,3	402.000	45/79 12.800	2	67	-	5	3	23	n.g
HS 2)	4,04	12,9	n.g.	4/10 5.700	-	76	-	3	2	19	n.g
Normalwerte 3)											
♂	4,6- 6,2	14- 18	120.000- 400.000	8/18 4) 4.800-	3	60- 70	<1	1- 5	2- 6	20- 30	0
♀	4,2- 5,4	12- 16	120.000- 400.000	11/20 4) 10.000	3	70	<1	1- 5	2- 6	20- 30	0

Tabelle XI: Therapie der Sézary-Syndrom- und Pre-Sézary-Syndrom-Patienten vor der Blutuntersuchung und weiterer Verlauf

Zeichenerklärung:

- 1) Bei allen 11 Patienten wurden extern Corticosteroide angewandt; deshalb wird diese Therapieform nicht angegeben.

Abkürzungen: CS: Corticosteroide intern;

NH₂: externe Stickstoff-Lost-Therapie.

- 2) Patient verstorben.
- 3) Das Sézary-Syndrom war ursächlich für das Ableben des Patienten verantwortlich.
- 4) Stadieneinteilung nach dem Autopsiebericht (modifiziert nach Kerl (91), siehe Tabelle IX).
- 5) Pre-Sézary-Syndrom

Tabelle XII: Labordaten der 8 Sézary-Syndrom- und 3 Pre-Sézary-Syndrom-Patienten zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung

Zeichenerklärung:

- 1) n.g. = nicht getestet
- 2) Pre-Sézary-Syndrome
- 3) Normalwerte aus Schettler 1980 (47)
- 4) Normalwerte für die BKS aus Begemann 1982 (7)

4.1.2 Die Pre-Sézary-Syndrom-Patienten

Drei Erkrankte (KB, HS und WL) konnten nicht sicher allein aufgrund der klinischen und histologischen Befunde vor der Blutzellenuntersuchung als SS erkannt werden. Im Sinne von Winkelmann et al. (191, 192) können diese Patienten als Pre-Sézary-Syndrome bezeichnet werden, falls die Sézary-Zellwerte noch nicht das für die Diagnose eines SS erforderliche Ausmaß erreichen, die klinischen Befunde aber darauf hindeuten. Da durch diese Arbeit der für die Diagnose eines SS erforderliche Prozentsatz von SC ermittelt werden soll, können diese drei Fälle dazu nicht herangezogen werden, wohl aber zum Vergleich der Leistungsfähigkeit der drei verschiedenen Untersuchungsmethoden.

Die klinischen, laborchemischen und anamnetischen Daten dieser drei Pre-SS sind in den Tabellen X - XII angeführt. Beim Patienten KB wurden im Abstand von fünf Monaten zwei buffy coats angefertigt und der Prozentsatz der SC bestimmt.

Bei diesen drei Erkrankten konnte noch kein Hinweis auf einen spezifischen Lymphknotenbefall oder eine viszerale Manifestation der Erkrankung gefunden werden.

Die Erkrankungsdauer betrug zwischen 0,9 und 6 Jahre.

Bei zwei Pre-Sézary-Syndromen war eine stark beschleunigte BKS festzustellen. Bei KB befanden sich die Leukozyten im oberen Normbereich bzw. bei der zweiten Blutuntersuchung bei 12.800 / μ l. Hervorzuheben ist, daß bei allen drei Pre-SS der Anteil der Lymphozyten im Differentialblutbild vermindert war bzw. im unteren Normbereich lag.

Die absoluten Lymphozytenwerte schwankten zwischen 600 - 2.900 / μ l (Mittelwert 1.300 / μ l). Bei jeweils einem Pre-SS waren die Eosinophilen mit 8 % (WL) im Differentialblutbild leicht bzw. der Ig E-Spiegel mit 3.700 U/ml (HS) (Normbereich < 100 U/ml) massiv erhöht.

4.1.3 Die Mycosis fungoides- Patienten

Tabelle XIII zeigt anamnestische und klinische Angaben sowie die Stadieneinteilung bei 7 MF- Patienten zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung. Ebenfalls ist die Therapie vor der ultrastrukturellen Analyse der Lymphozyten und das weitere Schicksal der Patienten vermerkt.

Einige Blutwerte der gleichen Fälle zeigt Tabelle XIV. Zum Zeitpunkt des buffy coats konnte bei einer MF eine periphere Lymphadenopathie und bei zwei weiteren sogar ein spezifischer Befall eines Lymphknotens nachgewiesen werden. Letztere verstarben 7 und 15 Monate nach der Blutuntersuchung. Ihre Krankheitsdauer betrug 10,2 (AG) bzw. 2,6 (FP) Jahre. Bei keinem Fall war eine viszerale Beteiligung festzustellen. Bei FU traten eine Woche nach der Blutuntersuchung retroaurikuläre und inguinale Lymphknotenschwellungen auf, die histologisch einen spezifischen Befall aufwiesen.

Die Hauterscheinungen bestanden bei einem Patienten aus erythematösen Läsionen und bei je drei aus Plaques bzw. Tumoren.

Das histologische Bild bei FP wandelte sich zu einem T-immunoblastischen Lymphom (152). Bei diesem Patienten wurden auch eine Haut- und Lymphknotenbiopsie untersucht. Die Hautprobe wurde zu Beginn der Erkrankung entnommen, als das histologische Bild noch eher einer MF entsprach. Die Lymphknotenuntersuchung wurde zum gleichen Zeitpunkt wie der buffy coat durchgeführt, als sich das T-immunoblastische Lymphom bereits voll entwickelt hatte.

Das rote Blutbild und die Thrombozyten wiesen bei keiner MF grobe Besonderheiten auf. Bei einem Patienten war die BKS leicht, bei einem weiteren mittelgradig erhöht.

Nur bei FU bewegte sich die Leukozytenzahl am oberen Normbereich. Der Durchschnittswert der Leukozyten betrug 6.300/ μ l, der der Lymphozyten 2.300/ μ l (Spannweite 700-4.200/ μ l).

Bei drei von sieben MF (FU, GP und JZ) wurden erhöhte Ig E-

Initi- len	Ge- schlecht 1)	Alter 2)	Stadienein- teilung (modif. nach Kerl (91)) 3)	Krankheitsdauer bis zur Blut- untersuchung (in Jahren)	Beobachtungszeit nach der Blut- untersuchung (in Jahren)	Therapie vor der Blutuntersuchung 4)
15)	w	57	I b	3	1	selektive Fotothera- pie (Saalmann)
25)	m	53	II a	3	1	-
35)	m	38	I b	29	3	-
45)	m	59	I b bzw. III b (6)	1,5	0,5	-
55)	m	62	I c	2	0	-
65)	w	70	III c	9	1,2 7)	CS, PUVA, Leukeran, COPP (CS, Vincristin, Cyclophosphamid, Procar- bazin), Röntgenfermbe- strahlung, Therapie mit schnellen Elektronen
75)	m	69	III c	2	0,6 7)	CS, PUVA, Leukeran, Röntgenfernbestrahlung

m = männlich; w = weiblich

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

Zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung

Bei allen Patienten wurden Corticosteroide intern

eigens aufgeführt. Es bedeutet: CS: Corticosteroide intern

Bei diesen Fällen lag auch ein Blutausschlag zur Untersuchung auf SC vor.

Eine Woche nach der Blutuntersuchung traten retroaurikuläre und inguinale Lymphknotenschwellungen auf, die histologisch das Bild eines spezifischen MF-Befalls zeigten.

Patient verstarb; Mycosis fungoides ursächlich für das Ableben verantwortlich.

Tabelle XIV: Labordaten bei 7 Mycosis fungoides- Patienten zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung

Init.	Ery. (Mill/ /ul)	Hb (g %)	Thromb. (pro/ul)	BKS	Leukoz. (pro/ul)	D i f f e r e n t i a l	Stab-ker-nige	Neutro-phile	Baso-phile	Eosino-phile	Monocyten	Lymphocyten	% P + Zell
Hw	5,00	14,2	295.000	20/45	6.300	-	4	55	-	2	3	36	25
JZ	5,11	14,2	181.000	1/4	4.100	1	-	48	1	3	6	45	10
GP	5,27	16,5	323.000	10/26	6.400	-	1	60	-	1	-	38	30
FU	4,60	16,6	296.000	4/17	10.300	-	-	54	-	-	5	41	n.g
JE	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g
AG	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	5.800	3	-	69	3	4	2	12	n.g
FP	4,29	13,0	192.000	8/19	5.100	-	2	46	-	3	3	46	n.g

n.g. = nicht getestet

Für Normwerte siehe Tabelle XII

4.1.4 Die Kontrollen

Um festzustellen, ob die beim Sézary-Syndrom ermittelten Werte für die zirkulierenden SC auch bei anderen Erkrankungen oder Normalpersonen erreicht werden, wurden 10 Patienten mit gutartigen Hauterkrankungen (ein zirkumskriptes und ein generalisiertes nummuläres Ekzem, drei generalisierte Kontaktdermatitiden mit Erythrodermie, je ein erythrodermisches Exsikkationsekzematid, Dermatitis atopica und Pseudolymphom sowie zwei Parapsoriasis en plaques - eine großfleckige und eine kleinfleckige Form -) und drei gesunde Normalpersonen in diese Studie aufgenommen.

Vor allem zum Vergleich der Leistungsfähigkeit der drei verwandten Untersuchungsmethoden wurde auch Blut einer erythrodermatischen Form des angioimmunoblastischen Lymphoms auf Sézary-Zellen überprüft.

Das Alter und Geschlecht, die Diagnose und Therapie vor der Blutuntersuchung sind in Tabelle XV, die Labordaten in Tabelle XVI zusammengestellt.

Der Hämoglobingehalt des Blutes und die Erythrozyten waren bei zwei Patienten vermindert. Bei HD führte die Anämie zur Diagnose eines Kolonkarzinoms, an dem der Patient auch verstarb.

In drei Fällen war die Zahl der Eosinophilen, in zwei die der Monozyten erhöht. Bei drei Patienten wurden Blutaussstriche auf PAS-positive Zellen untersucht und Werte zwischen 0 - 20 % gefunden.

Der IgE-Spiegel im Blut bewegte sich bei zwei Erkrankten (FB, OR) zwischen 300 - 500 U/ml und war bei ED mit 17.000 U/ml massiv erhöht.

Tabelle XV : Alter und Geschlecht, Diagnose und Therapie der Kontrollen

Initia- len	Geschlecht 1)	Alter 2)	Diagnose	Therapie vor der Blutuntersuchung 3)
FB 4)	m	62	großfleckige Parapsoriasis en plaques	PUVA
WJ 4)	m	75	kleinfleckige Parapsoriasis en plaques	PUVA
CB	w	23	nummuläres Ekzem	-
OR 4)	w	57	allergische Kontaktdermatitis (Erythrodermie)	CS
GG	m	37	Exsikkationsekszem (Erythrodermie)	-
EO 4)	m	39	Dermatitis atopica (Erythrodermie)	-
HD	m	64	allergische Kontaktdermatitis (Erythrodermie)	-
EB	m	75	allergische Kontaktdermatitis (Erythrodermie)	-
RW	m	36	nummuläres Ekzem (Erythrodermie)	-
FH 4)	m	49	Pseudolymphom (Erythrodermie)	-
ME 4)	w	50	angioimmunoblastisches Lymphom (Erythrodermie)	CS
CS	m	36	gesunde Normalperson	-
WS	m	22	gesunde Normalperson	-
FR	m	35	gesunde Normalperson	-

Tabelle XV: Alter und Geschlecht, Diagnose und Therapie der Kontrollen
(Forts.)

- 1) m = männlich; w = weiblich
- 2) Zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung
- 3) Bei allen Erkrankten wurden Corticosteroide **extern** angewandt; deshalb wird auf die Angabe dieser Therapieform verzichtet.
Es bedeutet: CS: Corticosteroide intern.
- 4) Bei diesen Fällen lag auch ein Blutaussstrich zur Untersuchung auf Sézary-Zellen vor.

Tabelle XVI:

Labordaten der Kontrollen zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung

Init.	Erv. (Mill/ ul)	Hb (g %)	Thromb. (pro/ul)	BKS Leukoz. (pro/ul)	D i f f e r e n t i a l Stab-ker- nige	Neutro- phile	Baso- phile	Eosino- phile	Mono- zyten	Lympho- zyten	% Ze
FB	4,49	15,5	n.g.	17/35	2	51	2	1	9	35	0
WJ	5,08	16,0	n.g.	5/9	1	46	2	4	6	41	n
CB	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n
OR	4,70	14,7	244.000	6/21	2	74	-	2	7	15	n
GG	4,88	16,2	302.000	10/23	-	51	-	3	3	43	n
EO	4,93	16,7	296.000	15/37	-	78	-	-	3	19	n
HD	4,24	10,4	538.000	41/60	2	36	-	24	4	34	2
EB	4,70	14,9	490.000	19/52	1	64	1	5	8	21	n
RW	4,62	15,9	302.000	22/32	-	55	1	8	6	30	n
FH	4,22	13,2	329.000	20/40	2	50	1	8	3	36	1
ME	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	3	12	-	-	-	85	n

n.g. = nicht getestet

für Normwerte siehe Tabelle XII.

4.2 Ultrastrukturelle Morphologie der Sézary-Zelle

Die Morphologie der Sézary-Zellen, die bei dieser Studie festgestellt wurde, entspricht der in Kap. 2.4.1.3.1 beschriebenen:

Die Abb. 4 - 9 zeigen Sézary-Zellen, für die besonders der labyrinthartig verzweigte Kern und das organellenarme Zytoplasma charakteristisch sind. Das Chromatin erscheint marginal verdichtet. Relativ oft sind Nukleoli zu erkennen. Es wurden sowohl SC, die einen Nukleolus mit einem Nukleonema (Abb. 5) besaßen als auch SC mit einem ringförmigen Nukleolus (Abb. 4 und 7) gefunden. In den meisten Fällen waren die Kerne vom ribosomenarmen Zytoplasma (Abb. 5 - 7) umgeben. Nur bei einem SS (LL) waren auffallend viele ribosomenreiche SC zu erkennen, die auch öfter einen ringförmigen Nukleolus aufwiesen.

Falls Organellen im Zytoplasma vorhanden sind, befinden sie sich meist an dem Zellpol konzentriert, von dem die Kerneinsenkungen ausgehen. Diese monodirektionale Orientierung der Kernfalten ist besonders deutlich in den Abb. 4 und 5. Vereinzelt sind Mitochondrien, ein spärlich entwickeltes raues endoplasmatisches Retikulum sowie dichte oder Gall bodies wahrzunehmen (Abb. 4 - 9).

Auffällige Glykogeneinlagerungen wurden nur bei den SC von LKI und LKII (Abb. 4) gefunden.

Mitunter werden die SC-Kerne so getroffen, daß der Eindruck einer Kernspaltung (Abb. 6) oder einer allseitig von Kernmaterial umschlossenen Kerneinsenkung (Abb. 4) entsteht.

Entscheidend für die Charakterisierung einer lymphoiden Zelle als Sézary-Zelle, Übergangslimphozyt (ÜL) oder normaler Lymphozyt (NL) ist der Grad ihrer Kerneinsenkung, der durch den NCI - wie oben erwähnt - sehr genau bestimmt werden kann.

In einer Pilotstudie (siehe Kap. 3.2.2) wurde versucht, Kriterien zu erarbeiten, um auch im Semidünnschnitt zwischen diesen drei Zellgruppen unterscheiden zu können. Letztere wurden während dieser Studie überprüft, indem bei acht Patienten vor der NCI-Bestimmung anhand der ultrastrukturellen Aufnahmen die lymphoiden Zellen gemäß den Kriterien des Semidünnschnittes differenziert und anschließend mit den mit Hilfe des NCI ermittelten Werten verglichen wurden.

Dabei erwies sich, wie Tabelle XVII zeigt, ihre hohe Zuverlässigkeit. Die Korrelationskoeffizienten für die einzelnen Zellgruppen - ermittelt mit und ohne NCI - betragen für die SC und UL 0,96 sowie für die NL sogar 0,995. Diese sind bei einem $P < 0,001$ signifikant.

Daraus folgt zum Beispiel, daß eine lymphoide Zelle zu Recht dann als Sézary-Zelle anzusehen ist, falls die Tiefe all ihrer Kerneinsenkungen zusammengerechnet, das 1,5fache des größten Kerndurchmessers überschreitet.

4.3 Die Größe der Sézary-Zellen im Ultradünnschnitt

4.3.1 Die Größe der lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen

Zum Vergleich für die Größe der SC wurden auch die Durchmesser der 443 lymphoiden Zellen der drei gesunden Normalpersonen gemessen. Die Mittelwerte betrugen 6,22 μm (CS), 6,03 μm (FR) und 6,01 μm (WS). Der Gesamtmittelwert für alle lymphoiden Zellen belief sich auf 6,09 μm . Dabei besaßen 44,0 - 51,2 % der Lymphozyten einen Durchmesser $\leq 6 \mu\text{m}$, 43,9 - 50,0 % einen zwischen 6 μm und 8 μm und nur 1,8 - 6,0 % einen Zelldurchmesser $\geq 8 \mu\text{m}$ (siehe Tabelle XVIII).

4.3.2 Die Klassifizierung der Sézary-Zellen nach ihrer Größe

Da der Mittelwert für den Zelldurchmesser der Lymphozyten

Tabelle XVII:

Vergleich der Prozentsätze der drei Zelltypen bei Charakterisierung durch den NCI oder allein durch Betrachten des Grades der Kerneinfaltung im Ultradünnschnitt (UD) oder im Semidünnschnitt (SD)

Initialen	% Sézary-Zellen			% Übergangslymphozyten			% normale Lymphozyten			n
	SD	NCI	UD	SD	NCI	UD	SD	NCI	UD	
FH	5	8,8	10	19	21,7	18	76	69,5	72	124
WL	2	1	2	15	4	8	83	95	90	100
WL	12	15	12	28	32	31	60	53	57	100
GS	10	12,1	9,4	34	36	41	56	51,9	49,6	240
ME	6	3,2	2,6	42	43,9	39,4	52	52,9	58,0	155
RW	1	1,7	0,9	6	8,7	7,8	93	89,6	91,3	115
EB	3	7,4	5,7	9	20,5	18,9	88	72,1	75,4	122
HD	3	1,9	2,8	24	24	29,6	73	74,1	67,6	108
r	0,88 0,96			0,89 0,96			0,88 0,995			

n: Zahl der gemessenen Zellen beim Vergleich zwischen Ultradünnschnitt mit und ohne Morphometrie. Die Zahl der im Semidünnschnitt analysierten Zellen betrug mindestens 300.

r: Korrelationskoeffizient

gesunder Normalpersonen im Ultradünnschnitt um $6\mu\text{m}$ liegt, wird diese Marke dazu benützt, die Sézary-Zellen gemäß ihrer Größe zu klassifizieren:

- a) In kleine SC, falls sie einen kleineren Durchmesser d als den Mittelwert für die Lymphozyten gesunder Normalpersonen besitzen: $d \leq 6\mu\text{m}$.
- b) In mittelgroße SC, falls ihr Durchmesser d bis zu einem Drittel größer als $6\mu\text{m}$ ist: $6\mu\text{m} < d \leq 8\mu\text{m}$.
- c) In große SC, falls ihr Durchmesser d $8\mu\text{m}$ erreicht: $d \geq 8\mu\text{m}$.

4.3.3 Die Größe der Sézary-Zellen beim Sézary-Syndrom

Die Tabelle XVIII zeigt die Prozentsätze für die kleinen SC, mittelgroßen SC und großen SC sowie die Zahl der gemessenen SC bei den 12 Blutproben, Tabelle XIX Mittelwerte und Standardabweichungen. Der Mittelwert für alle gemessenen 545 Sézary-Zellen beträgt beim SS $6,6\mu\text{m}$ bei einer Standardabweichung von 1,185.

Dabei erreicht die größte SC einen Durchmesser von $11,4\mu\text{m}$. 12 Sézary-Zellen übertreffen $9\mu\text{m}$, nur 5 SC $10\mu\text{m}$.

Aus Tabelle XVIII geht hervor, daß sowohl SS mit vielen kleinen SC ($\leq 6\mu\text{m}$) als auch mit vielen großen SC ($\geq 8\mu\text{m}$) vorkommen.

Aufgrund des Überwiegens der großen oder kleinen Sézary-Zellen lassen sich die 12 Blutproben der SS in zwei Gruppen einteilen.

Diese Differenzierung wird auch durch die Mittelwerte für die SC-Durchmesser bei den einzelnen SS, die im Rahmen einer einfachen Varianzanalyse gewonnen wurden, bestätigt:

Diejenigen SS, bei denen die großen SC überwiegen (GH, GK, LKII, FGII, FGIII), erreichen Mittelwerte zwischen $7,06\mu\text{m}$ und $7,53\mu\text{m}$, diejenigen SS, bei denen die kleinen SC dominieren (GS, LKI, FGI, FGIV, BM, JS, LL), Mittelwerte zwi-

Tabelle XVIII: Die Größenverteilung der Sézary-Zellen (zur Kontrolle ist auch die Größenverteilung der lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen angeführt) bei den untersuchten Krankheitsgruppen

Initi- alen	% kleine Sézary- Zellen $d \leq 6, \mu m$	% mittelgroße Sézary-Zellen $6, \mu m < d < 8, \mu m$	% große Sézary- Zellen $d \geq 8, \mu m$	Zell- zahl
<u>Sézary-Syndrom</u>				
GS	48,3	44,8	6,9	29
GH	2,7	70,3	27,0	37
GK	15	50	35	20
LKI	26	61	13	123
LKII	9,1	50	40,9	22
FGI	32,1	59	8,9	56
FGII	17,9	53,6	28,5	28
FGIII	4,4	66,7	28,9	45
FGIV	38,5	57,7	3,8	26
BM	51,3	46,2	2,5	39
JS	43,2	40,6	16,2	74
LL	91,3	8,7	0	46
Mittelwert	33,2	51,4	15,4	545
<u>Pre-Sézary-Syndrom</u>				
WL	5,3	15,8	78,9	19
KBI	0	100	0	9
KBII	40	60	0	25
HS	5,6	61,1	33,3	18
Mittelwert	16,9	53,5	29,6	71
<u>Angioimmunoblastisches Lymphom</u>				
ME	100	0	0	9

Tabelle XVIII: Die Größenverteilung der Sézary-Zellen
(Forts.) (zur Kontrolle ist auch die Größenverteilung der lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen angeführt) bei den untersuchten Krankheitsgruppen

Initi- alen	% kleine Sézary- Zellen $d \leq 6, \mu\text{m}$	% mittelgroße Sézary-Zellen $6, \mu\text{m} < d < 8, \mu\text{m}$	% große Sézary- Zellen $d \geq 8, \mu\text{m}$	Zell- zahl
<u>Mycosis fungoides</u>				
HW	0	100	0	2
JZ	40	60	0	5
GP	72,7	18,2	9,1	11
FU	82,4	17,6	0	51
JE	62,5	37,5	0	8
AG	0	100	0	2
FP	39,3	53,6	7,1	28
Mittel- wert	63,6	33,6	2,8	107
<u>Mycosis fungoides - Haut</u>				
FPH	0	20	80	5
<u>Mycosis fungoides - Lymphknoten</u>				
FPL	0	22,7	77,3	22

Tabelle XVIII: Die Größenverteilung der Sézary-Zellen (zur Kontrolle ist auch die Größenverteilung der lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen angeführt) bei den untersuchten Krankheitsgruppen

Initi- alen	% kleine Sézary- Zellen $d \leq 6, \mu m$	% mittelgroße Sézary-Zellen $6, \mu m < d < 8, \mu m$	% große Sézary- Zellen $d \geq 8, \mu m$	Zell- zahl
----------------	--	---	---	---------------

Gutartige Hauterkrankungen

FB	56	40	4	25
WJ	0	100	0	2
CB	28,6	57,1	14,3	7
RW	25	25	50	4
OR	40	52	8	25
HD	12,5	87,5	0	8
EB	8,3	83,4	8,3	12
GG	53,8	46,2	0	13
FH	16,7	75	8,3	12
EO	14,3	66,7	19	21

Mittel- wert	34,1	56,6	9,3	129
-----------------	------	------	-----	-----

Gesunde Normalpersonen

FR	33,3	66,7	0	3
CS	0	50	50	2
WS	50	50	0	4

Mittel- wert	33,3	55,6	11,1	9
-----------------	------	------	------	---

Gesunde Normalpersonen - alle lymphoiden Zellen

FR	48,6	49,6	1,8	111
CS	44,0	50,0	6,0	166
WS	51,2	43,9	4,8	166

Mittel- wert	47,9	47,6	4,5	443
-----------------	------	------	-----	-----

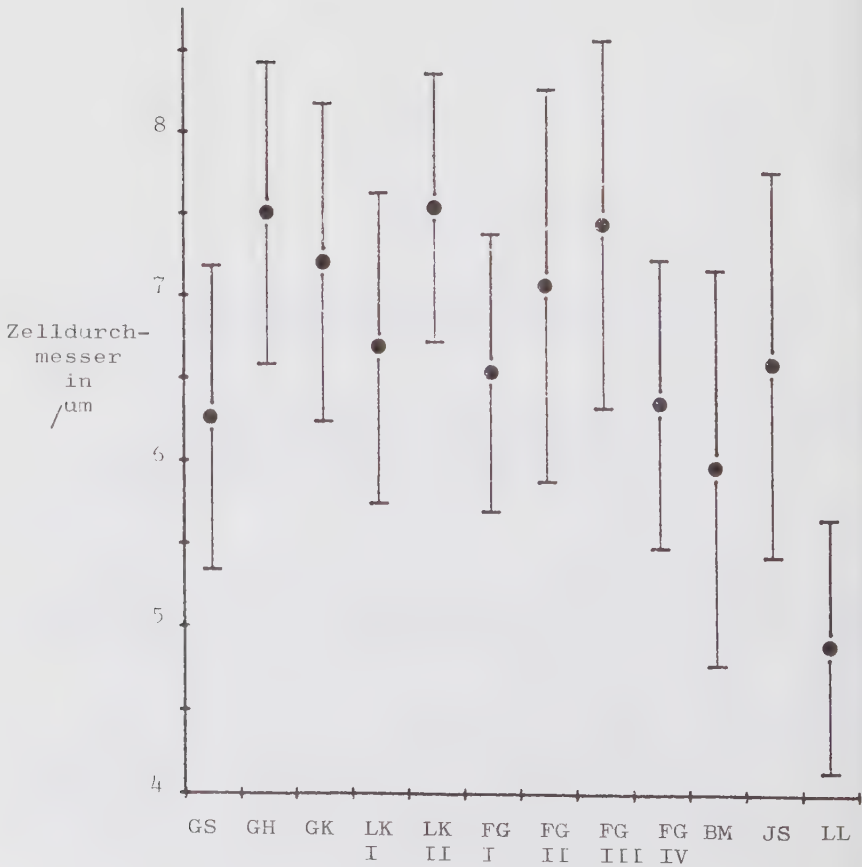
Tabelle XIX: Mittelwerte und Standardabweichungen für den Durchmesser der Sézary-Zellen bei den 12 Blutproben der Sézary-Syn-drome (gewonnen aus einer einfachen Varianzanalyse)

Initi- alen	Mittelwerte	Standardab- weichungen
SS	6,26	0,92
SH	7,50	0,92
SK	7,20	0,97
KI	6,68	0,94
KII	7,53	0,82
GI	6,53	0,84
GII	7,06	1,19
GIII	7,43	1,12
GIV	6,34	0,87
MI	5,96	1,19
SI	6,58	1,16
LI	4,89	0,75

Tabelle XX: Ergebnis der einfachen Varianzanalyse für die Zellgröße bei den 12 Sézary-Syn-dromen (eingegeben wurden die in cm ge-messenen Zelldurchmesser)

Quelle der Variation	SAQ	FG	MAQ	F	α 0,05
Hasen	40,0403	11	3,64	23,175	*
Versuchsfehler	83,7164	533	0,1571		
Gesamt:	123,7567	544			

Abb. 14: Graphische Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Größe der Sézary-Zellen im Ultradünnschnitt bei den 12 Blutproben der Sézary-Syndrome



schen 4,89, μ m und 6,68 (siehe Tabelle XIX und Abb.14). Die einfache Varianzanalyse für die 12 Blutproben ergibt bei Freiheitsgraden von 533 und 11 einen F-Wert von 23,175 (siehe Tabelle XX). Dieser ist bei einem $P < 0,05$ signifikant. Dies bedeutet, daß nicht alle SS bezüglich des Durchmessers ihrer SC aus der gleichen Grundgesamtheit stammen. Zumindest die Zellen eines SS besitzen ihren Ursprung nicht in der Grundgesamtheit der anderen SS.

Im Scheffé-Test auf lineare Kontraste lassen sich spezielle Fragestellungen noch gesondert prüfen. Dabei ergibt sich bei einem Vergleich zwischen der Größe der SC bei LL, dem SS bei dem die meisten kleinen Sézary-Zellen beobachtet wurden, und den SS, deren Mittelwert für die Zelldurchmesser mehr als 7,1 μ m betrug (siehe Tabelle XIX und Abb. 14) (GH, GK, LKII und FGIII), ein F-Wert von 5,476, der bei einem $P < 0,05$ signifikant ist. Daraus folgt: die Sézary-Zellen bei LL besitzen eine andere Größenverteilung als die SC der SS GH, GK, LKII und FGIII.

Auffallend ist, daß sich bei den mehrfach im Abstand von jeweils drei Monaten analysierten SS die Zellgröße der SC ändert. Obwohl, wie oben beschrieben, bei LKI die kleinen SC die großen SC noch übertreffen, überwiegen bei LKII die großen SC mit 40,9 % deutlich (siehe Tabelle XVIII). Beim Patienten FG nimmt bei den Messungen FGI, FGII und FGIII die Zahl der kleinen SC immer mehr ab, während die der großen SC ansteigt und die der mittelgroßen SC relativ stabil bleibt. Bei FGIV überwiegen dann allerdings wieder die kleinen SC mit 38,5 % (siehe auch Tabelle XVIII).

Mit dem o.a. Scheffé-Test lassen sich jedoch sowohl bei einem Vergleich zwischen LKI/LKII als auch zwischen FGIII/FGI und FGIV nur F-Werte von 0,349 bzw. 0,682 errechnen, die bei einem $P < 0,05$ nicht signifikant sind. Mit diesem Test lassen sich also diese o.a. Unterschiede in der Größenverteilung der Sézary-Zellen bei Blutproben des gleichen Patienten nicht beweisen.

Werden alle Blutproben zusammengenommen, konnten bei unseren 12 SS 33,2 % kleine SC, 51,4 % mittelgroße und 15,4 % große SC festgestellt werden. Diese Prozentsätze werden in Tabelle XVIII als Mittelwerte bezeichnet.

Die Abb. 15 enthält für alle SS insgesamt die Zahl der kleinen, mittleren und großen SC.

4.3.4 Die Größe der Sézary-Zellen bei den Pre-Sézary-Syndromen

In dieser Gruppe betragen - wie Tabelle XVIII zeigt - nur bei drei Pre-SS (WL, KBII und HS) die Zellzahlen so hohe Werte (größer als 15), daß verlässliche Aussagen getroffen werden können. Bei zwei von diesen drei Pre-SS dominieren die großen SC und bei KBII die kleinen SC. Bei 71 gemessenen Zellen ergeben sich folgende Mittelwerte:

kleine SC: 16,9 %; mittelgroße SC: 53,5 %; große SC: 29,6 % (graphische Darstellung siehe Abb. 15).

Beim Chi-Quadratstest errechnet sich im Vergleich zu den SS bei einer gleichen Einteilung der Kontingenztafel wie in Tabelle XVIII und Abb. 15 ein Chi-Quadrat von 12,78. Dieses ist bei einem $P < 0,005$ signifikant. Es läßt sich daher mit dem Chi-Quadratstest beweisen, daß sich die Durchmesser der SC bei den SS und Pre-SS in ihrer Verteilung signifikant voneinander unterscheiden.

4.3.5 Die Größe der Sézary-Zellen bei der Mycosis fungoides

Mehr als 15 gemessene SC, wie sie für eine Aussage über die Zellgröße bei einzelnen Blutproben zu fordern sind, werden nur von zwei Patienten (FU und FP) (siehe Tabelle XVIII) erreicht. Dabei überwiegen bei beiden die kleinen SC.

Im Vergleich zu den SS errechnet sich im Chi-Quadratstest (Einteilung der Kontingenztafel entspricht Tabelle XVIII

Abb. 15: Graphische Darstellung der Größenverteilung der Sézary-Zellen bei den einzelnen Krankheitsgruppen (Säulen 1 - 4) und der lymphoiden Zellen dreier gesunder Normalpersonen (Säule 5) im Ultradünnschnitt

Säule 1: Sézary-Syndrom

Säule 2: Pre-Sézary-Syndrom

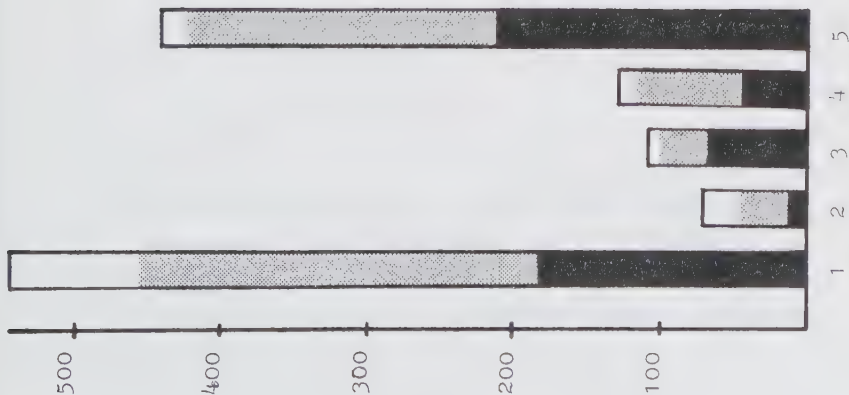
Säule 3: Mycosis fungoides

Säule 4: Gutartige Hauterkrankungen

Zellen mit einem Durchmesser $\leq 6 \mu\text{m}$

Zellen mit einem Durchmesser zwischen $6 \mu\text{m}$ und $8 \mu\text{m}$

Zellen mit einem Durchmesser $\geq 8 \mu\text{m}$



und Abb. 15) ein Chi-Quadrat von 38,02, das bei einem $P < 0,001$ signifikant ist. Daraus folgt, daß sich der Durchmesser der SC bei diesen zwei Krankheitsgruppen unterscheidet.

Von einem MF- Patienten (FP) wurde auch eine Haut- und Lymphknotenprobe ultrastrukturell untersucht. Nur bei der Lymphknotenbiopsie (FPL) konnten für einen Größenvergleich mit der Blutprobe ausreichende Zellzahlen gewonnen werden. In der Lymphknotenprobe befanden sich bei 22 ausgewerteten SC 22,7 % mittelgroße und 77,3 % große SC, jedoch keine kleinen SC. Beim Chi-Quadratstest (Einteilung der Kontingenztafel wie in Tabelle XVIII und Abb. 15) läßt sich bei einem Vergleich zwischen "Blut-SC" und "Lymphknoten-SC" ein Chi-Quadrat von 27,52 ermitteln. Dieses ist bei einem $P < 0,001$ signifikant. Damit unterscheiden sich "Blut-SC" und "Lymphknoten-SC" bei dem gleichen Patienten in ihrer Größe.

4.3.6 Die Größe der Sézary-Zellen bei gutartigen Hauterkrankungen, beim angioimmunoblastischen Lymphom sowie bei gesunden Normalpersonen

Beim angioimmunoblastischen Lymphom und bei den gesunden Normalpersonen liegt die Zahl der SC unter 15 pro Blutprobe, so daß keine Aussagen über die Verteilung der SC sinnvoll erscheinen (siehe Tabelle XVIII).

Nur bei drei gutartigen Erkrankungen (FB, OR und EO) konnten mehr als 15 SC analysiert werden. Bei zwei überwogen die kleinen SC, beim dritten Patient (EO) standen 14,3 % kleinen 19 % große SC gegenüber.

Die Mittelwerte für alle SC bei gutartigen Erkrankungen erreichen bei 129 gemessenen SC 34,1 % für die kleinen, 56,6 % für die mittelgroßen und 9,3 % für die großen SC (graphische Darstellung der Anteile jeder Zellart in Abb.15).

Im Chi-Quadratstest ergibt sich im Vergleich zu den 12 SS (Einteilung der Kontingenztafel entspricht Tabelle XVIII und Abb. 15) ein Chi-Quadrat von 3,3. Dieses ist bei einem $P < 0,05$ nicht signifikant. Es läßt sich demnach mit dem Chi-Quadratstest nicht beweisen, daß die Durchmesser der SC bei den SS und gutartigen Hauterkrankungen sich voneinander unterscheiden.

Wegen der großen Streuung der Einzelwerte bei den SS und gutartigen Hauterkrankungen, ist es nicht möglich, aufgrund von bestimmten die Größenverteilung der SC beschreibenden Parametern (zum Beispiel Mittelwert der Durchmesser, 25. und 70. Perzentile oder Zahl der kleinen, mittelgroßen und großen SC) zwischen gutartigen erythrodermatischen Hauterkrankungen und den SS im Einzelfall zu unterscheiden.

4.3.7 Größenvergleich zwischen den Sézary-Zellen und den lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen

Werden alle gemessenen SC aller untersuchten Blutproben in die drei Klassen (kleine, mittelgroße und große SC) eingeteilt, so ergibt sich als sogenannter Mittelwert bei 870 SC folgende Verteilung: kleine SC 36,4 %, mittelgroße SC 49,7% und große SC 13,9 % (siehe auch Tabelle XVIII und Abb. 15).

Mit Hilfe des Chi-Quadratstestes ist es möglich zu prüfen, ob die Größenverteilung der SC mit der der lymphoiden Zellen Gesunder übereinstimmt.

Die Kontingenztafel des Chi-Quadratstestes entspricht in ihrer Aufteilung Tabelle XVIII und Abb. 15. Es errechnet sich ein Chi-Quadrat von 32,88. Dieses ist bei einem $P < 0,001$ signifikant. Daraus folgt, daß die SC in ihrer Größenverteilung nicht mit der lymphoiden Zellen Gesunder übereinstimmen.

4.4 Die Genauigkeit der Zellauswertung

In den folgenden Kapiteln werden die Prozentzahlen der Sézary-Zellen bei den einzelnen Blutproben, die mit den drei verschiedenen Methoden ermittelt wurden, mitgeteilt. Alle drei verwendeten Techniken (Ausstrichuntersuchung, Semidünnschnitt - und Ultradünnschnittanalyse) basieren auf einem gemeinsamen Prinzip: es werden nur einhundert oder auch mehrere hundert Zellen analysiert und dann wird darauf vertraut, daß die Überprüfung aller Blutlymphozyten (etwa 9 Milliarden) zu den gleichen Resultaten führen würde. Daher stimmt das Ergebnis desto eher mit den tatsächlichen Gegebenheiten überein, je größer die Anzahl der untersuchten Zellen ist.

Allerdings führen arbeitsökonomische Überlegungen meist zu einer Beschränkung auf eine relativ geringe Anzahl von Blutzellen.

Die Spannweite, in der die sukzessiv vorgenommenen Messungen von Stichproben aus der Grundgesamtheit liegen, gibt das 95 %-Vertrauensintervall an: von einhundert Messungen liegen 95 in diesem Bereich.

Das Vertrauensintervall ist um so kleiner, je mehr Zellen gemessen werden. Die Tabelle XXI gibt die 95 %-Vertrauensintervalle in Abhängigkeit des Erwartungswertes und der Zahl der untersuchten Zellen an. Für den Erwartungswert 10 % liegt es zum Beispiel bei einhundert gemessenen Zellen zwischen 5 - 18. Die Daten für die Vertrauensintervalle, die in dieser Studie angegeben werden, stammen aus Documenta Geigy, Basel 1960.

Ein Vertrauensintervall von 5 - 18 bedeutet, daß, falls aus einer großen Anzahl Zellen unter denen sich zum Beispiel 10 % SC befinden einhundertmal 100 Zellen gemessen werden, in 95 Fällen die Ergebnisse zwischen 5 - 18 % liegen. Werden aber einhundertmal 700 Zellen analysiert, so befinden sich bei 95 Untersuchungen die Resultate im Intervall zwischen 8 - 12 % (siehe Tabelle XXI).

Es gilt daher, einen Kompromiß zu finden zwischen einer hohen Genauigkeit und der Praktikabilität der Methode. Bei unserer Studie wurden, wie bereits erwähnt, mindestens 300 Zellen im Semidünnschnitt und mindestens 100 im Ultra-
dünnschnitt bzw. Blutausstrich ausgewertet.

Die Größe des 95 %-Vertrauensintervalls ist auch wichtig bei der Abgrenzung gutartiger Fälle von den SS durch die Ermittlung des Anteils der SC an den lymphoiden Zellen. Falls zum Beispiel bei einem gutartigen Fall 8 % SC und bei einem SS 12 % SC festgestellt werden und das 95 %-Vertrauensintervall für den Erwartungswert 10 % 5 - 18 % beträgt, so läßt sich allein dadurch keine sichere Differenzierung vornehmen, denn bei beiden Fällen könnten sich in Wirklichkeit 10 % Sézary-Zellen unter den lymphoiden Zellen befinden.

Tabelle XXI: Das 95 %-Vertrauensintervall in Abhängigkeit von der Anzahl der gemessenen Zellen (n) und des Erwartungswertes (aus: Documenta Geigy, Basel 1960)

n	95 %-Vertrauensintervall					
	20	50	100	200	300	700
Erwartungswert						
5 %	0-25	1-15	2-11	2-9	3-8	4-7
10 %	1-32	3-22	5-18	6-15	7-14	8-12
15 %	3-38	6-28	9-24	10-21	11-20	11-18
30 %	12-54	18-45	21-40	24-37	25-36	27-34
70 %	46-88	55-82	60-79	63-76	64-75	66-73

4.5 Ergebnisse der Blutausstrichuntersuchung

In 18 Ausstrichen wurde nach den in Kap. 3.2.4 dargelegten Kriterien die Zahl der Sézary-Zellen unter hundert lymphoiden Zellen bestimmt. Die Resultate sind in Tabelle XXII aufgeführt: mit dieser Methode konnten die Sézary-Syndrome nicht von den gutartigen Hauterkrankungen abgegrenzt werden.

Sowohl in der Gruppe letzterer als auch unter den SS kommen SC- Werte über 10 % SC vor. Dabei erreicht zwar ein SS 18 %, jedoch auch zwei Kontrollen mehr als 14 %, die von keinem anderen SS aufgewiesen werden.

Die mit einem * in Tabelle XXII markierten Ausstriche wurden nur mit einem Tag Differenz zur ultrastrukturellen Analyse hergestellt und werden deshalb in Kap. 4.8.2 für den Vergleich der Leistungsfähigkeit beider Methoden verwandt.

4.6 Ergebnisse der Semidünnschnittuntersuchung

Die Tabelle XXII zeigt die Prozentwerte für die NL, ÜL und SC, die bei der Semidünnschnittuntersuchung ermittelt wurden.

Da sich die Bereiche für die SC- Werte bei gutartigen Hauterkrankungen und SS überlappen, läßt sich durch das alleinige Bestimmen der SC im Semidünnschnitt keine sichere Differenzierung treffen: wird zum Beispiel zur Unterscheidung für ein SS ein SC- Wert $> 8 \%$ gefordert, wird eine gutartige Erkrankung (EO) falsch positiv als SS angesehen (falsch positiv-Rate = 10 %). Knapp an der Grenze lägen auch mit 5 % bzw. 7 % SC die Fälle FH und OR. Weil das 95 %-Vertrauensintervall für 300 gemessene Zellen bei einem Erwartungswert von 5 % bzw. 8 % $3 - 8 \%$ bzw. $5 - 11 \%$ beträgt, wären auch bei diesen Fällen bei nochmaliger Semidünnschnittuntersuchung falsch positive Zuordnungen möglich.

Die Abb. 16 zeigt ein Scatterdiagramm, in dem auf der Abs-

zisse der Prozentsatz der Übergangslymphozyten und auf der Ordinate die Zahl der Sézary-Zellen unter den lymphoiden Blutzellen angegeben sind. Aus dieser Graphik läßt sich erkennen, daß eine sichere Differenzierung zwischen gutartigen erythrodermatischen Hauterkrankungen und SS im Semidünnschnitt nur dann möglich ist, falls auch die Zahl der ÜL berücksichtigt wird.

Alle Sézary-Syndrome, aber kein Fall der gutartigen Hauterkrankungen erfüllten in unserer Studie bei der Semidünnschnittuntersuchung alle drei folgenden Kriterien:

1. Sézary-Zellen $> 7 \%$;
2. Übergangslymphozyten $> 20 \%$;
3. Sézary-Zellen + Übergangslymphozyten $> 32 \%$

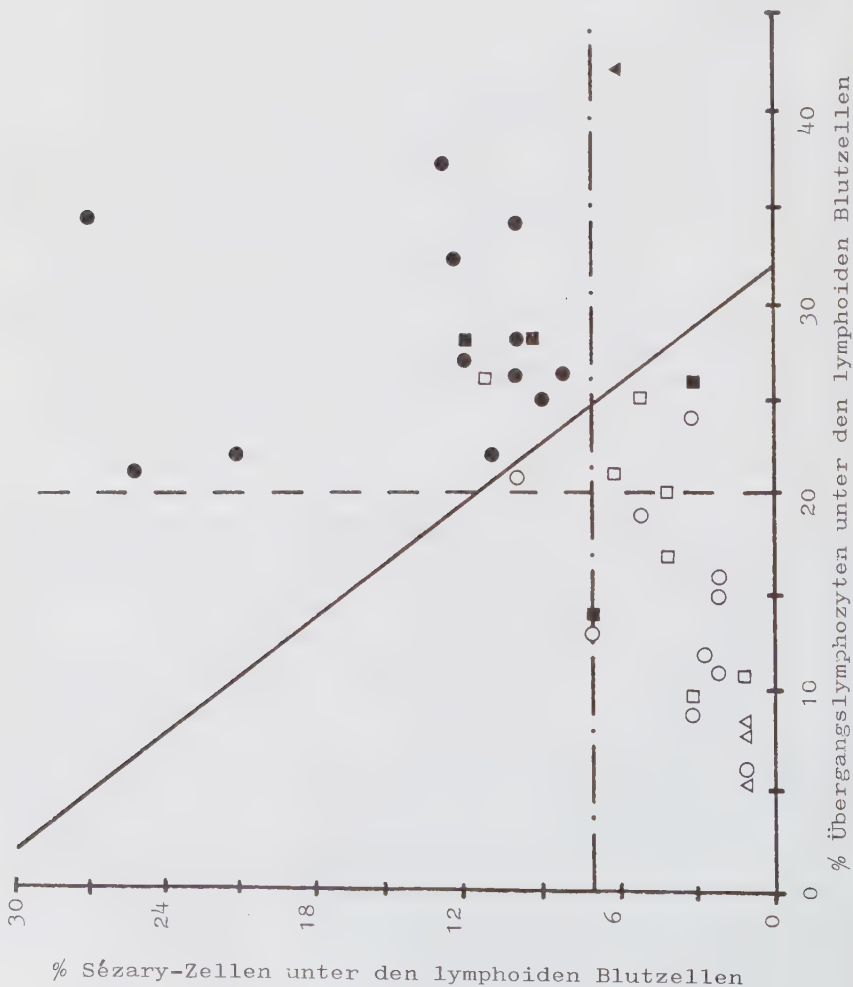
Mit diesen Kriterien können zwar alle gutartigen Erkrankungen von den SS unterschieden werden, doch bei EO gelingt dies nur sehr knapp (siehe Tabelle XXII und Abb. 16).

Wird das 95 %-Vertrauensintervall berücksichtigt, in dem bei Erwartungswerten von 21 % und 10 % bei einer nochmaligen Analyse der Lymphozytenkerne die Werte liegen könnten (zum Beispiel für 10 % zwischen 7 - 14 %), so ist eine falsch positive Einordnung dann nicht sicher auszuschließen.

Bei LKI wurde überprüft, in welchen Bereichen sich die Werte bewegen, falls statt 1.100 Zellen 11 x 100 lymphoide Zellen ausgewertet werden. Bei einem Mittelwert von 66 % NL, 26 % ÜL und 8 % SC lagen die Ergebnisse zwischen 57 - 72 % NL, 22 - 33 % ÜL und 4 - 13 % SC. Das 95 %-Vertrauensintervall beträgt bei 100 gemessenen Zellen für Erwartungswerte von 66 %, 26 % und 8 % 56 - 75 %, 18 - 36 % sowie 4 - 15 %. Die empirisch ermittelten Schwankungen lagen also alle innerhalb des 95 %-Vertrauensintervalls. Das 95 %-Vertrauensintervall für 1.100 analysierte Zellen ist natürlich sehr viel kleiner; es beträgt bei Erwartungswerten von 66 %, 26 % und 8 % 63 - 69 %, 23 - 29 % sowie 6 - 10 % (errechnet mit einer Annäherungsformel aus Immich (83):

Abb. 16: Scatterdiagramm für die Prozentsätze der Sézary-Zellen und der Übergangslimphozyten im Semidünnschnitt. Für das Vorliegen eines Sézary-Syndroms müssen im Semidünnschnitt drei Bedingungen erfüllt sein:

1. Sézary-Zellen $> 7\%$ (—•—)
 2. Übergangslimphozyten $> 20\%$ (—□—)
 3. Sézary-Zellen und Übergangslimphozyten $> 32\%$ (—•□—).
- (Zeichenerklärung siehe Abb. 18)



$$P \left\{ p - \frac{1}{2n} - c \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} < P(E) < p + \frac{1}{2n} + c \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} \right\} = 1 - \alpha$$

wobei $P(E)$ die Wahrscheinlichkeit für das Eintreffen des Ereignisses E und c der kritische Punkt der Standardnormalverteilung).

4.7 Die Ergebnisse der morphometrischen Untersuchungen

4.7.1 Die Reproduzierbarkeit des NCI

Die Reproduzierbarkeit des NCI wurde durch fünfmaliges Messen der gleichen Zellen untersucht.

Tabelle XXIV gibt die erzielten Werte wieder.

Die Abweichungen betragen höchstens 5,4 % vom Mittelwert des NCI. Differenzen über 3 % treten gehäuft bei Zellen mit einem NCI größer als 6,5 auf.

Die Reproduzierbarkeit des NCI liegt demnach bei über 90 %.

4.7.2 Die Resultate bei den verschiedenen Krankheitsgruppen

Die Prozentzahlen für die drei Zelltypen (NL, ÜL und SC) unter den lymphoiden Zellen sind in Tabelle XXII für die einzelnen Blutproben angegeben.

Da die Zahl der gemessenen Zellen für die Aussagekraft der Ergebnisse sehr wichtig ist - je kleiner die Zahl der gemessenen Zellen, desto größer das 95 %-Vertrauensintervall (siehe auch Tabelle XXI) - wird sie deshalb in Tabelle XXIII angegeben. Insgesamt wurden etwa 6.000 Zellen ultrastrukturell und morphometrisch analysiert.

Histogramme von typischen Fällen aus den untersuchten Krankheitsgruppen werden in den Abbildungen 17 a - j gezeigt.

Ebenso wie bei der Semidünnschnittuntersuchung wurden auch ultrastrukturell bei LKI mehrere hundert Zellen gemessen,

Tabelle XXII:

Die Prozentsätze der normalen Lymphozyten, der Übergangslymphozyten und der Sézary-Zellen unter den lymphoiden Zellen im Blutausstrich (LMBA), Semidünnschnitt (LM) und Ultradünnschnitt (EM) für alle untersuchten Proben

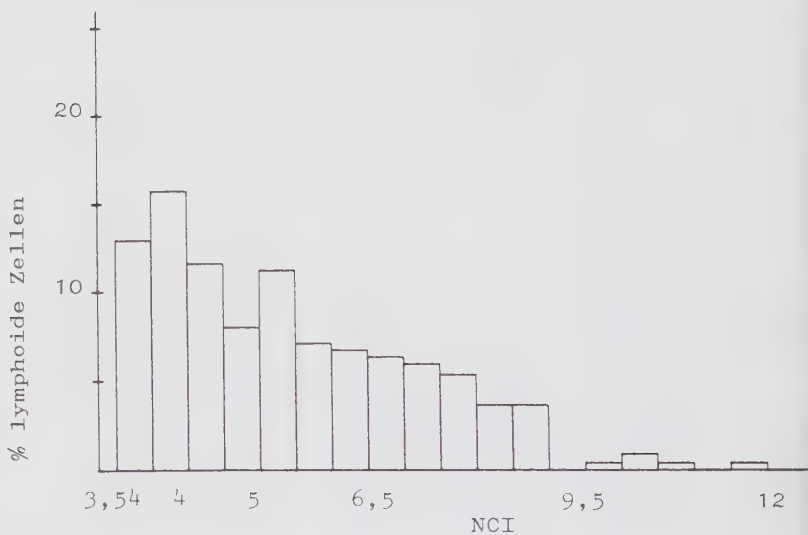
Initi- alen	% normale Lymphozyten		% Übergangs- lymphozyten		% Sézary- Zellen		
	EM	LM	EM	LM	EM	LM	LMBA
<u>Sézary-Syndrom</u>							
GS	51,9	56	36	34	12,1	10	
GH	35,6	50	42,5	37	21,9	13	
GK	59,5	67	27,5	22	13	11	13 *
LKI	48	66	33,2	26	18,8	8	
LKII	52,1	66	28,1	25	19,8	9	
FGI	48,2	57	25	22	26,8	21	
FGII	52,5	54	24,2	21	23,3	25	
FGIII	35,4	61	26	27	38,6	12	11 *
FGIV	57,2	62	23,2	28	19,6	10	
BM	34,1	55,5	34,2	32	31,7	12,5	18 *
JS	17,2	39	25	34	57,8	27	12
LL	37,5	64	36,8	26	27,7	10	
Spannweite	17,2- 59,5	39- 67	23,2- 42,5	21- 37	12,1- 57,8	8- 27	11- 18
<u>Pre-Sézary-Syndrom</u>							
WL	55,2	60	30,3	28	14,5	12	18
KBI	79,3	79	14,3	14	6,4	7	
KBII	56	63	28	28	16	9	15 *
HS	73,5	71	15,8	26	10,7	3	10
Spannweite	55,2- 79,3	60- 79	14,3- 30,3	14- 28	6,4- 16	3- 12	10- 18
<u>Mycosis fungoides - Haut</u>							
FPH	75,6	-	18,9	-	5,5	-	
<u>Mycosis fungoides - Lymphknoten</u>							
FPL	48,2	-	33,1	-	18,7	-	

Tab. II: Die Prozentsätze der normalen Lymphozyten, der Übergangslymphozyten und der Sézary-Zellen unter den lymphoiden Zellen im Blutausstrich (LMBA), Semidünnschnitt (LM) und Ultradünnschnitt (EM) für alle untersuchten Proben

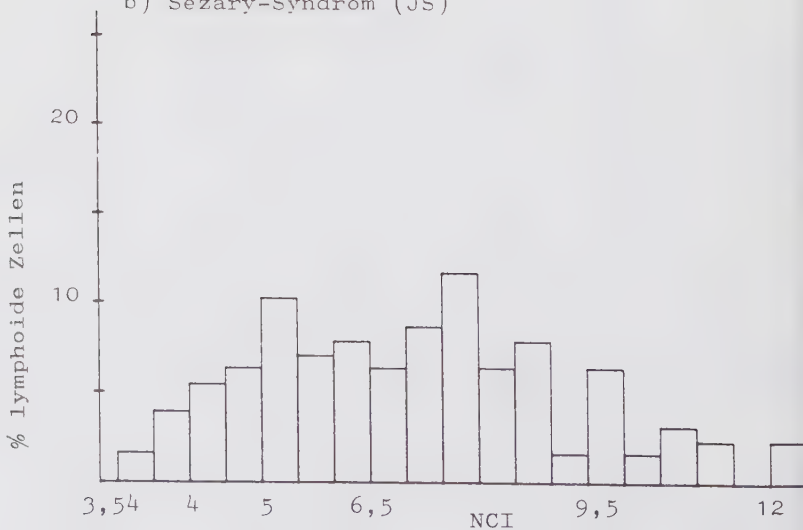
Klini- len	% normale Lymphozyten		% Übergangs- lymphozyten		% Sézary- Zellen		
	EM	LM	EM	LM	EM	LM	LMBA
<u>Lycosis fungoides - Blut</u>							
HW	91,6	79	7,6	17	0,8	4	7 *
DZ	85,6	88	10,6	11	3,8	1	7
GP	75,9	87	15,2	10	8,9	3	12
TU	58,6	73	12,9	21	28,5	6	
DE	74,6	70	19,7	25	5,7	5	
AG	84,7	76	13,7	20	1,6	4	11 *
P	52,5	63	29,8	26	17,7	11	15
Spannweite	52,5- 91,6	63- 88	7,6- 29,8	10- 26	0,8- 28,5	1- 11	7- 15
<u>Angioimmunoblastisches Lymphom</u>							
ME	52,9	52	43,9	42	3,2	6	35 *
<u>Mykoseartige Hauterkrankungen</u>							
B	66,5	82	22	16	11,5	2	3
J	93	83	6	15	1	2	10 *
B	84,3	88,5	11,5	12	4,2	2,5	
W	89,6	93	8,7	6	1,7	1	
R	72,6	83	14	13	13,4	7	12 *
D	74,1	73	24	24	1,9	3	
B	72,1	88	20,5	9	7,4	3	
G	80,6	88	14,7	11	4,7	2	
H	69,5	76	21,7	19	8,8	5	15 *
O	65,7	69	26	21	8,3	10	16 *
Spannweite	65,7- 93	69- 93	6- 26	6- 24	1- 13,4	1- 10	3- 16
<u>Gesunde Normalpersonen</u>							
R	96,4	91	2,7	8	0,9	1	
S	90,3	93	8,5	6	1,2	1	
S	86,1	91	12,7	8	1,2	1	
Spannweite	86,1- 96,4	91- 93	2,7- 12,7	6- 8	0,9- 1,2	1	

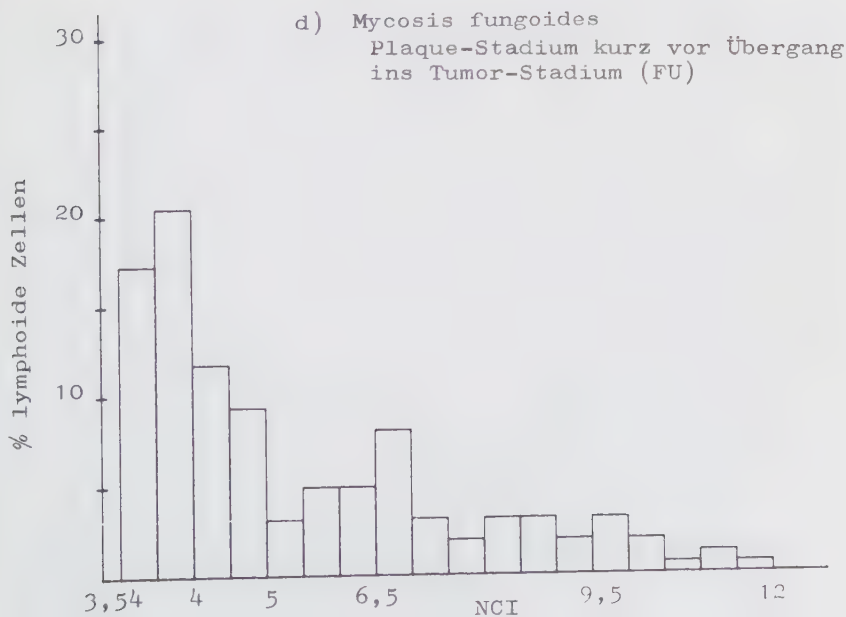
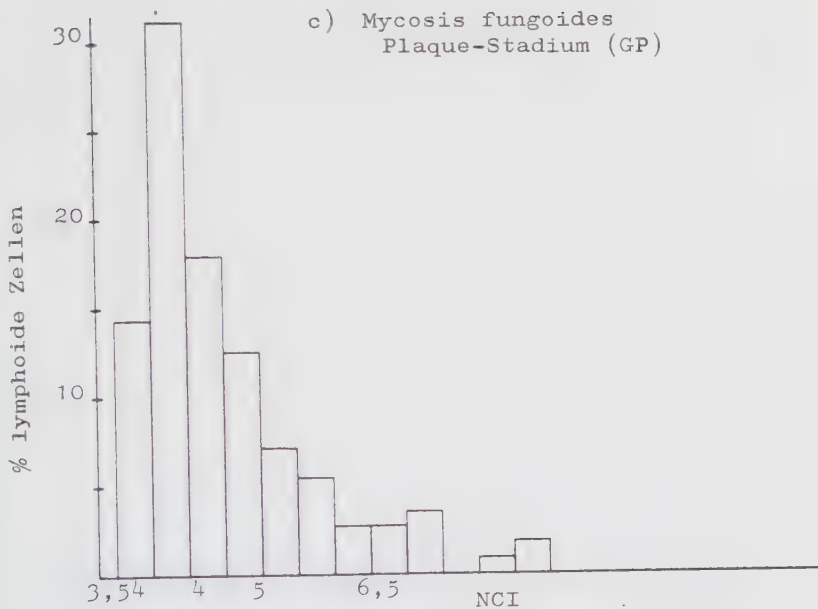
Abb. 17: Charakteristische Histogramme der NCI-Verteilung

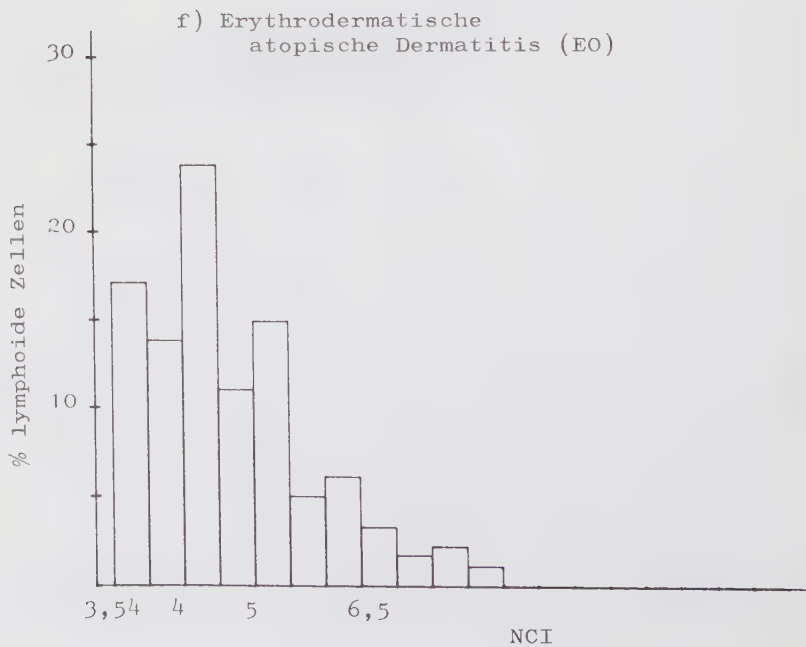
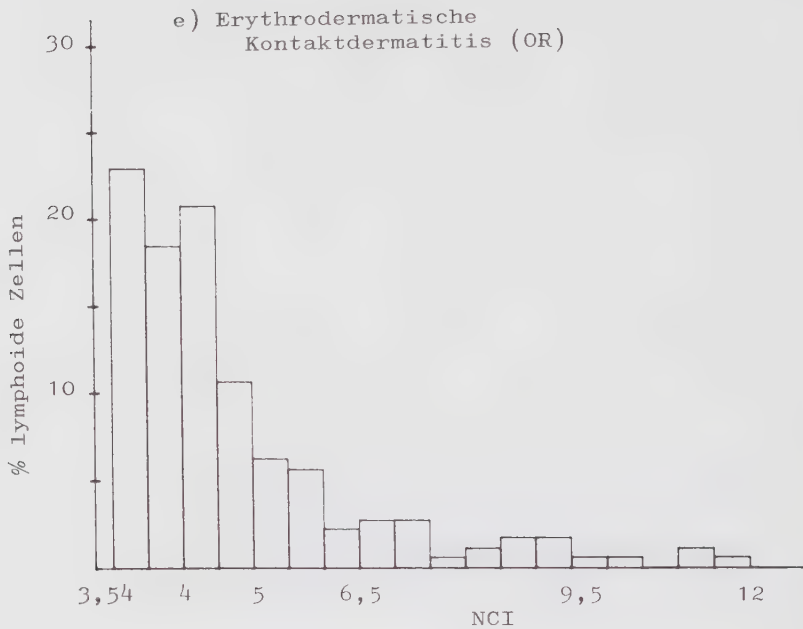
a) Sézary-Syndrom (FGI)

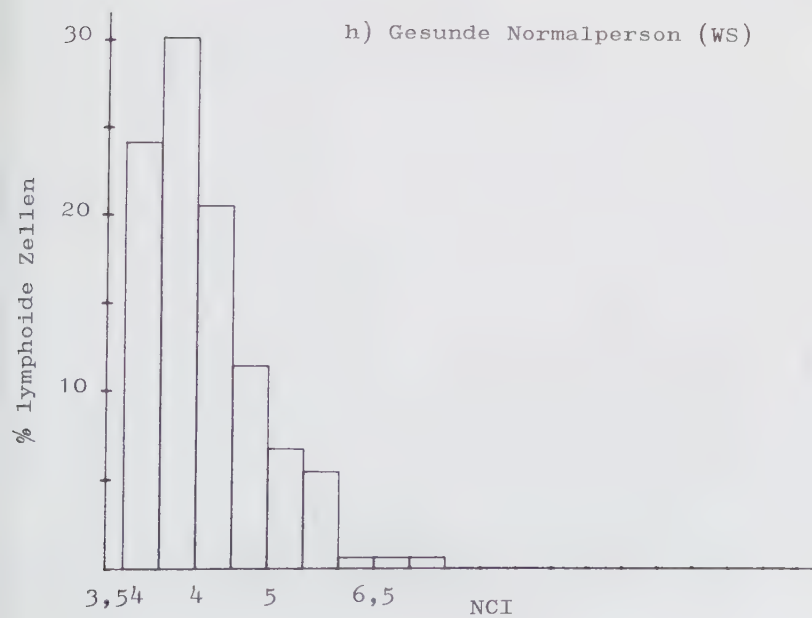
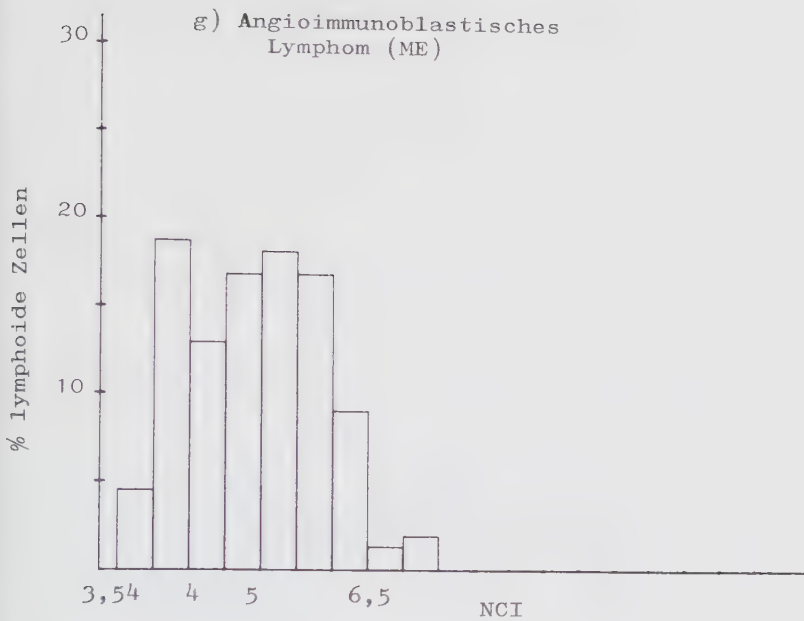


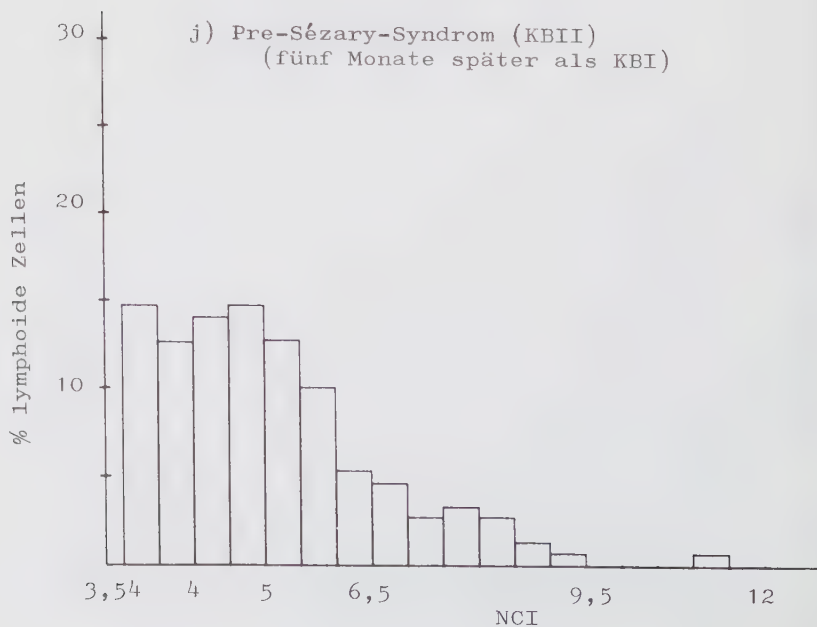
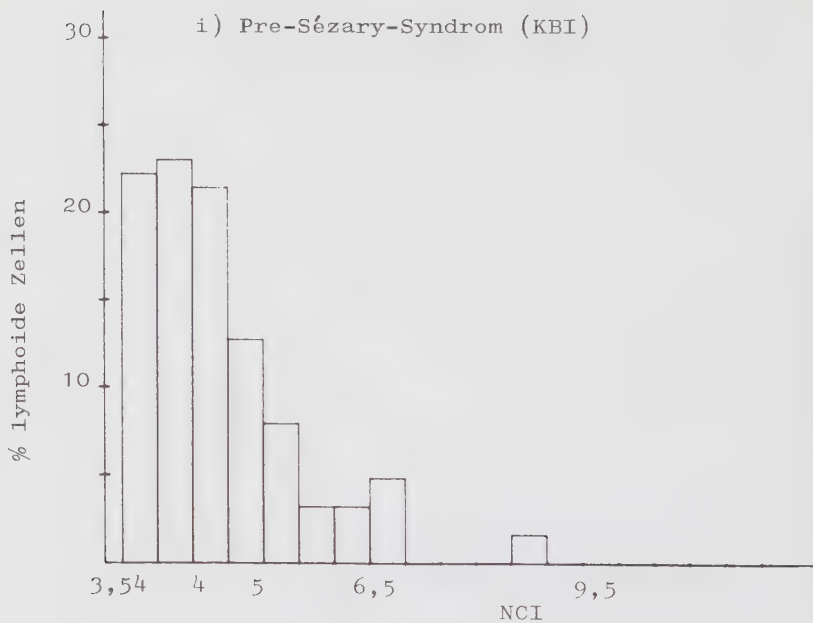
b) Sézary-Syndrom (JS)











um die Schwankungsbreite, die bei der Analyse von nur 100 Zellen aus dem nur kleinen Anteil der untersuchten Zellen an der Gesamtzahl resultiert, abschätzen zu können. Bei 700 gemessenen lymphoiden Zellen fanden sich folgende Mittelwerte (Spannweite in Klammern): SC 18,8 % (12 - 25 %), ÜL 33,2 % (28 - 44 %) und NL 48 % (41 - 56 %). Die entsprechenden 95 %-Vertrauensintervalle betragen für die Erwartungswerte 19 %, 33 % und 48 % 11 - 27 %, 24 - 43 % sowie 38 - 58 %. Nur ein Wert liegt also knapp mit 44 % ÜL außerhalb des 95 %-Vertrauensintervalls.

Aus dem Prozentsatz der SC unter allen lymphoiden Zellen (siehe Tabelle XXII) und der Zahl der Lymphozyten / μ l zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung (siehe Tabelle XII) läßt sich die absolute Zahl der Sézary-Zellen / μ l Blut berechnen. Diese beträgt bei den SS 500 - 3.900 SC/ μ l, bei den Pre-SS 90 - 500 SC/ μ l, bei der MF 10 - 1.200 SC/ μ l, beim angioimmunoblastischen Lymphom 1.000 SC/ μ l und bei den gutartigen Hauterkrankungen 30 - 300 SC/ μ l. Die SC/ μ l jedes Patienten sind der Tabelle XXIII zu entnehmen.

Eine weitere Möglichkeit, die NCI- Verteilung der lymphoiden Zellen einer Blutprobe näher zu charakterisieren, bietet neben der Angabe des Prozentsatzes der SC, ÜL und NL auch die Berechnung der 25. (P_{25}) und 70. (P_{70}) Perzentilen (174). Die P_{25} bzw. P_{70} gibt den Wert innerhalb der NCI-Verteilung an, den 25 bzw. 70 % der Lymphozyten unterschreiten. Die P_{25} und P_{70} sind für jeden Patienten in Tabelle XXIII aufgeführt.

Der Mittelwert aus dem NCI aller lymphoiden Zellen eines Patienten schwankt bei den SS zwischen 5,0 - 7,1, bei den Pre-SS zwischen 4,4 - 5,1, zwischen 4,1 - 5,5 bei der MF, zwischen 4,1 - 4,9 bei benignen Hauterkrankungen und zwischen 4,0 - 4,2 bei Gesunden. Der Mittelwert beim angioimmunoblastischen Lymphom liegt bei 4,9.

Tabelle XXIII: Zahl der gemessenen Zellen (n), größter NCI (NCI_{max}), Mittelwert ($\bar{x}$) und 25. (P₂₅) bzw. 70. (P₇₀) Perzentile der NCI- Verteilung sowie die absolute Zahl der Sézary-Zellen pro μ l (SC/ μ l) bei allen Untersuchungen

Initi- alen	n	NCI _{max}	$\bar{x}$	P ₂₅	P ₇₀	SC/ μ l
<u>Sézary-Syndrom</u>						
GS	239	9,8	5,1	4,2	5,7	2.100
GH	146	9,9	5,7	4,6	6,1	800
GK	153	9,0	5,0	4,1	5,5	600
LKI	700	12,0	5,3	4,3	5,9	3.900
LKII	121	9,4	5,3	4,2	5,9	3.000
FGI	224	11,7	5,5	3,95	6,2	700
FGII	120	12,1	5,3	3,9	6,0	500
FGIII	119	12,9	6,1	4,6	6,7	600
FGIV	138	12,2	5,2	4,0	5,8	600
BM	123	11,0	5,9	4,8	6,5	2.900
JS	128	12,5	7,1	5,4	8,2	2.500
LL	169	12,6	5,7	4,6	6,4	1.700
Spann- weite	2.380	9,0- 12,9	5,0- 7,1	3,9- 5,4	5,5- 8,2	500- 3.900
<u>Pre-Sézary-Syndrom</u>						
WL	152	10,0	5,1	4,2	5,8	90
KBI	126	12,6	4,4	3,8	4,7	100
KBII	150	11,5	5,1	4,0	5,6	500
HS	132	10,5	4,7	3,85	4,8	100
Spann- weite	560	10,0- 12,6	4,4- 5,1	3,8- 4,2	4,7- 5,8	90- 500
<u>Mycosis fungoides- Haut</u>						
FPH	90	8,4	4,8	4,2	4,9	-
<u>Mycosis fungoides- Lymphknoten</u>						
FPL	133	15,6	5,6	4,2	5,9	-

Tabelle XXIII:
(Forts.)

Initi- alen	n	NCI _{max}	$\bar{x}$	P ₂₅	P ₇₀	SC/ _{/u1}
<u>Mycosis fungoides- Blut</u>						
HW	130	6,6	4,1	3,75	4,2	20
JZ	132	7,5	4,3	3,8	4,1	70
GP	112	8,7	4,6	3,85	4,8	200
FU	162	13,0	5,5	3,85	6,4	1.200
JE	122	8,0	4,5	3,85	4,9	-
AG	124	7,8	4,4	3,85	4,5	10
FP	158	13,3	5,3	4,2	5,8	400
Spann- weite	940	6,6- 13,3	4,1- 5,5	3,75- 4,2	4,1- 6,4	10- 1.200
<u>Angioimmunoblastisches Lymphom</u>						
ME	155	8,8	4,9	4,1	5,5	1.000
<u>Gutartige Hauterkrankungen</u>						
FB	182	12,9	4,9	4,1	5,2	300
WJ	185	7,5	4,1	3,75	4,2	30
CB	139	9,0	4,4	3,85	4,5	-
RW	115	6,9	4,1	3,7	4,2	50
OR	179	13,0	4,9	3,8	4,9	200
HD	108	9,3	4,6	3,9	4,9	60
EB	122	10,5	4,6	3,85	5,0	100
GG	150	10,8	4,5	3,8	4,8	200
FH	124	9,0	4,7	3,85	5,1	300
EO	181	12,4	4,8	3,9	5,2	300
Spann- weite	1.485	6,9- 13,0	4,1- 4,9	3,7- 4,1	4,2- 5,2	30- 300
<u>Gesunde Normalpersonen</u>						
FR	111	7,5	4,0	3,7	4,0	-
CS	175	7,5	4,2	3,8	4,1	-
WS	166	7,5	4,2	3,8	4,4	-
Spann- weite	452	7,5	4,0- 4,2	3,7- 3,8	4,0- 4,4	-

Tabelle XXIV: Überprüfung der Reproduzierbarkeit des NCI durch fünfmaliges Messen der gleichen Zellen

Ergebnisse bei den einzelnen Messungen

1	2	3	4	5	Mittelwert	größte Abweichung in % vom Mittelwert
3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	0
4,3	4,3	4,4	4,3	4,3	4,3	2,1
5,2	5,3	5,2	5,2	5,2	5,2	1,9
5,8	5,9	5,7	5,7	5,7	5,8	1,7
6,1	5,9	6,3	5,8	5,9	6,0	5,0
7,5	7,3	7,3	7,4	7,4	7,4	1,3
7,8	8,1	7,6	7,5	7,6	7,7	5,2
9,0	8,9	8,8	8,8	8,8	8,9	1,1
10,1	10,2	10,0	9,8	9,7	10,0	3,0
10,8	10,9	10,9	11,6	11,8	11,2	5,4
15,7	16,0	15,7	15,4	15,3	15,6	2,6

Bei jeder Probe wurde auch die Zelle mit dem größten NCI gesucht. Der NCI dieser SC wird ebenfalls in Tabelle XXIII angeführt.

4.7.3 Die morphometrische Untersuchung der Haut- und Lymphknotenbiopsie bei einem T-immunoblastischen Lymphom (FP)

Beim Patienten FP, dessen Krankheitsverlauf bereits von Schmoeckel et al. (152) publiziert wurde, ist auch eine Haut- und Lymphknotenbiopsie morphometrisch untersucht worden. (für die Ergebnisse siehe auch Tabellen XXII und XXIII).

Die Hautprobe wurde zu Beginn der Erkrankung entnommen, als das histologische Bild eher einer MF entsprach.

Bei der Untersuchung eines spezifisch befallenen Lymphknotens - die Entnahme erfolgte gleichzeitig zur Blutprobe, als die

Erkrankung sich bereits als T- immunoblastisches Lymphom erwies, - resultierten annähernd die gleichen Ergebnisse wie bei der des Blutes.

4.7.4 Ultrastrukturelle morphometrische Unterscheidungskriterien zwischen gutartigen Hauterkrankungen und Sézary-Syndromen

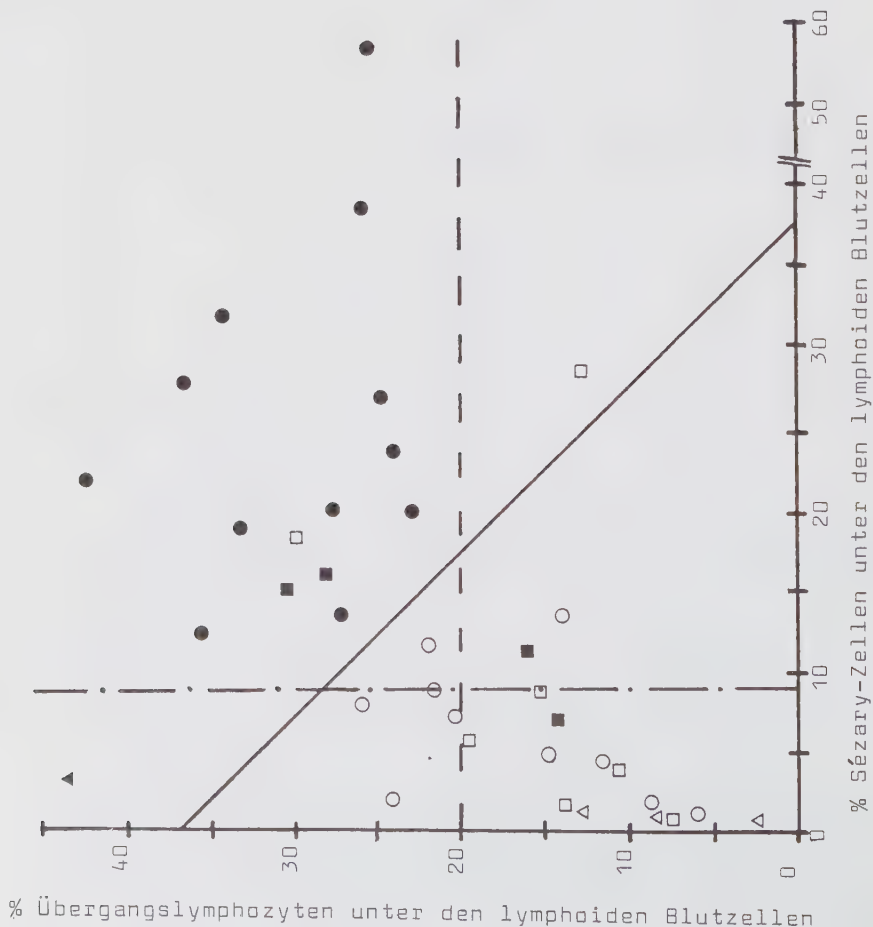
Die Zahl der SC unter allen lymphoiden Zellen bietet sich zunächst als Unterscheidungskriterium an. Bei unserer Studie ergab sich als niedrigster Wert unter allen SS 12,1 % SC. Wird das 95 %-Vertrauensintervall für den Erwartungswert 12 % bei 100 ausgewerteten Zellen, das zwischen 6 % und 20 % liegt, berücksichtigt, sind bereits 9 % SC für ein SS als ausreichend anzusehen. Diese Zahl erreichen jedoch auch zwei von zehn gutartigen Hauterkrankungen (FB,OR), wobei zusätzlich EO und FH mit 8,3 % sowie 8,8 % SC nur knapp unterhalb liegen.

Daraus folgt, daß weitere Kriterien nötig sind, um eine sichere Abgrenzung zu ermöglichen. In Abb. 18 sind in einem Scatterdiagramm für jeden Patienten die Zahl der SC auf der Abszisse und die der Übergangslymphozyten auf der Ordinate aufgetragen.

In dieser Graphik läßt sich eine Trennungslinie zwischen gutartigen Erkrankungen und SS sehr einfach ziehen: sie schließt als Hypotenuse ein rechtwinkliges Dreieck mit der x- und y- Achse als Katheten gleicher Länge ab. Alle Punkte, die auf der Hypotenuse liegen, besitzen die gleiche Summe aus der Addition des x- und y- Wertes. Daraus ergibt sich, daß die Summe der SC und ÜL für alle Punkte dieser Geraden 37 % beträgt oder anderst ausgedrückt, die Zahl der NL 63 % ausmacht.

Für alle SS gilt also, daß sie mehr als 37 % ÜL und SC besitzen. In unserer Studie ist eine gewisse Sicherheitszone bei dieser Grenzziehung schon enthalten, denn die beiden SS mit der niedrigsten Summe erreichen sogar 42,8 % (FGIV) und

Abb. 18: Scatterdiagramm für die Prozentsätze der Sézary-Zellen und der Übergangslymphozyten (ermittelt durch die NCI-Analyse). Für das Vorliegen eines Sézary-Syndroms müssen 3 Bedingungen erfüllt sein: 1. Sézary-Zellen $> 9\%$ ($\leftarrow \bullet \rightarrow$) 2. Übergangslymphozyten $> 20\%$ ($\leftarrow \rightarrow$) 3. Sézary-Zellen und Übergangslymphozyten $> 37\%$ ($\leftarrow \bullet \rightarrow$).
($\bullet$ Sézary-Syndrom; $\blacksquare$ Pre-Sézary-Syndrom;
 $\square$ Mycosis fungoides; $\circ$ gutartige Hauterkrankungen;
 $\triangle$ gesunde Normalpersonen; $\blacktriangle$ angioimmunoblastisches Lymphom)



40,5 % (GK).

Das 95 %-Vertrauensintervall für einen Erwartungswert von 37 % bei einhundert gemessenen Zellen liegt zwischen 28 % und 47 %.

Keine benigne Hauterkrankung besitzt dagegen mehr als 37 % SC und ÜL. Auch hier ist noch eine gewisse Sicherheitszone vorhanden, denn die höchsten Werte liegen bei 34,3 % (EO) und 33,5 % (FB).

Nur eine erythrodermatische Erkrankung nämlich das angioimmunoblastische Lymphom übertrifft als einziges "Nicht-CTCL" 37 % SC und ÜL. Doch kann diese durch die Forderung nach mehr als 9 % SC von den SS abgegrenzt werden.

Da unter den SS die ÜL immer über 23,2 % liegen, wird als dritte Bedingung für das Vorhandensein eines SS mehr als 20 % ÜL gefordert.

Zusammengefaßt ist eine Erkrankung dann als Sézary-Syndrom anzusehen, falls - natürlich neben der klinischen Symptomatik - alle drei folgenden ultrastrukturellen Bedingungen erfüllt sind:

1. Die Zahl der Sézary-Zellen unter allen lymphoiden Blutzellen beträgt mehr als 9 %.
2. Die Zahl der Übergangslimphozyten unter allen lymphoiden Blutzellen überschreitet 20 %.
3. Die Summe aus 1. und 2. nimmt einen höheren Wert als 37 % an. Diese Aussage ist gleichbedeutend mit der Forderung nach weniger als 63 % normalen Lymphozyten unter den lymphoiden Blutzellen.

Diese Bedingungen sind strenger als jene, die zur Differenzierung bei Semidünnschnitten ermittelt wurden.

Dies liegt daran, daß zwei verschiedene Untersuchungsmethoden für die gleiche Aufgabenstellung verwandt wurden. Die sich daraus ergebenden Schlußfolgerungen werden ausführlich in Kap. 5.8 diskutiert.

Zur Differenzierung kann auch die absolute SC- Zahl herangezogen werden. Diese liegt bei den SS immer bei 500 SC/ μ l oder mehr; dagegen erreicht keine gutartige Hauterkrankung mehr als 300 SC/ μ l. Das angioimmunoblastische Lymphom besitzt jedoch mit 1.000 SC/ μ l mehr SC als einige SS.

Eine Unterscheidung zwischen benignen Hauterkrankungen und SS ist grundsätzlich auch mit der P_{25} bzw. P_{70} und dem Mittelwert der NCI- Verteilung denkbar.

In Abb. 19 ist in einem Scatterdiagramm für jede Blutprobe die P_{25} auf der Ordinate und die P_{70} auf der Abszisse eingetragen.

Eine klare Trennung ergibt sich durch die eingezeichnete Gerade. Die Summe aus P_{25} und P_{70} beträgt für alle Punkte dieser Geraden 9,45.

Ein Verdacht auf ein Sézary-Syndrom läßt sich also bestätigen, falls die Summe aus der P_{25} und P_{70} der NCI- Verteilung für die lymphoiden Zellen mehr als 9,45 beträgt. Alle SS in unserer Studie übertreffen diese Marke (niedrigste Werte: 9,6 (GK), 9,8 (FBIv) und 9,9 (FBI)) und keine gutartige Erkrankung erreicht diese (höchste Werte: 9,3 (FB) und 9,1 (EO)). Das angioimmunoblastische Lymphom läßt sich allerdings mit Hilfe der P_{25} und P_{70} nicht von den SS abgrenzen, da es die gleichen Werte wie ein SS (GK) erreicht.

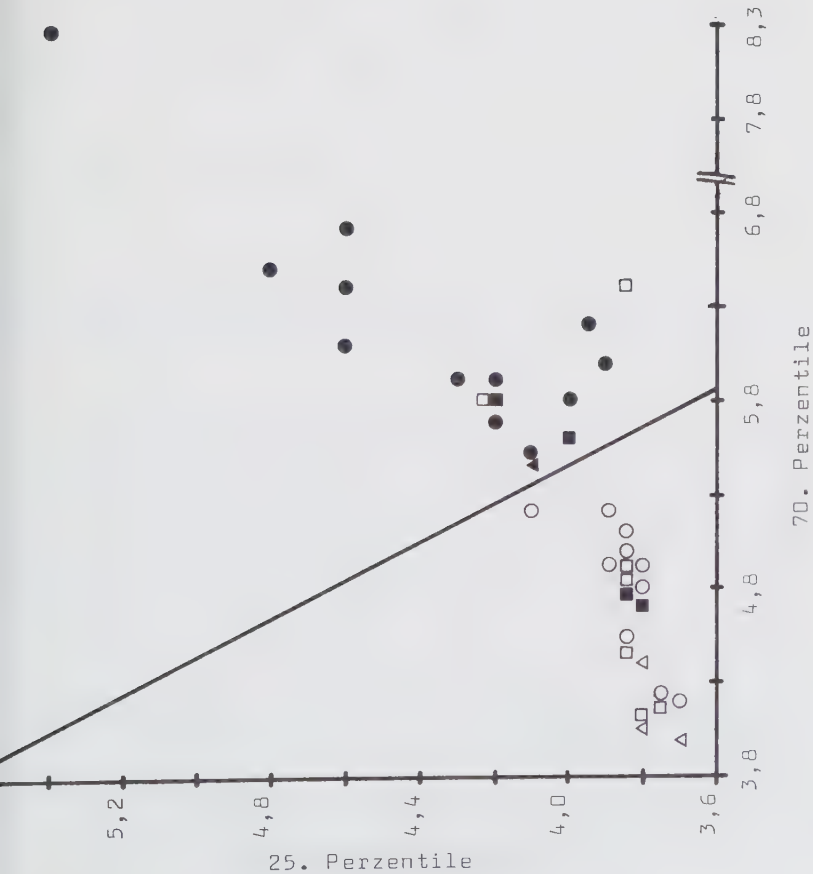
Wird der Mittelwert der NCI- Verteilung als Differenzierungsmittel verwandt, lassen sich ebenfalls alle gutartigen Fälle und sogar das angioimmunoblastische Lymphom von den SS abgrenzen. Alle SS besitzen einen Mittelwert größer oder gleich 5,0 und keine gutartige Erkrankung, das angioimmunoblastische Lymphom eingeschlossen, erreicht einen höheren als 4,9.

Der maximale NCI eignet sich nicht für eine Differenzierung. Während nur 7 von 12 SS einen NCI_{max} von mehr als 11,5 aufweisen, kommt ein solcher Wert auch bei 3 von 10 benignen Hauterkrankungen vor.

19: Scatterdiagramm für die 25. (P_{25}) und 70. (P_{70}) Perzentile bei den einzelnen Blutproben.

Durch die eingezeichnete Gerade lassen sich alle gutartigen Hauterkrankungen mit Ausnahme des angioimmunoblastischen Lymphoms von den Sézary-Syndromen abgrenzen. Die Summe aus P_{25} und P_{70} beträgt für alle Punkte dieser Geraden 9,45.

(● Sézary-Syndrom; ■ Pre-Sézary-Syndrom;
 □ Mycosis fungoides; ○ gutartige Hauterkrankungen;
 △ gesunde Normalpersonen; ▲ angioimmunoblastisches Lymphom)



4.8 Vergleich zwischen den angewandten Untersuchungs- methoden (morphometrische Analyse von Ultradünnschnitten, Semidünnschnitt - und Blutausstrich- untersuchung)

4.8.1 Allgemeine Überlegungen

Das präziseste der angewandten Verfahren stellt zweifellos die morphometrische Analyse der Ultradünnschnitte dar. Durch die Auswertung von fotografierten Ultradünnschnitten, sind auch die kleinen Kerneinfaltungen viel deutlicher zu sehen als in Semidünnschnitten oder im Blutausstrich. Dazu kommt noch, daß durch die Morphometrie die Tiefe und damit die Wertigkeit der Einbuchtungen für eine Zuordnung zu den drei Zellklassen mit einer sehr hohen ($> 90\%$) Reproduzierbarkeit bestimmt werden kann.

Deshalb werden die anderen Verfahren hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit nicht untereinander, sondern mit dem Besten verglichen.

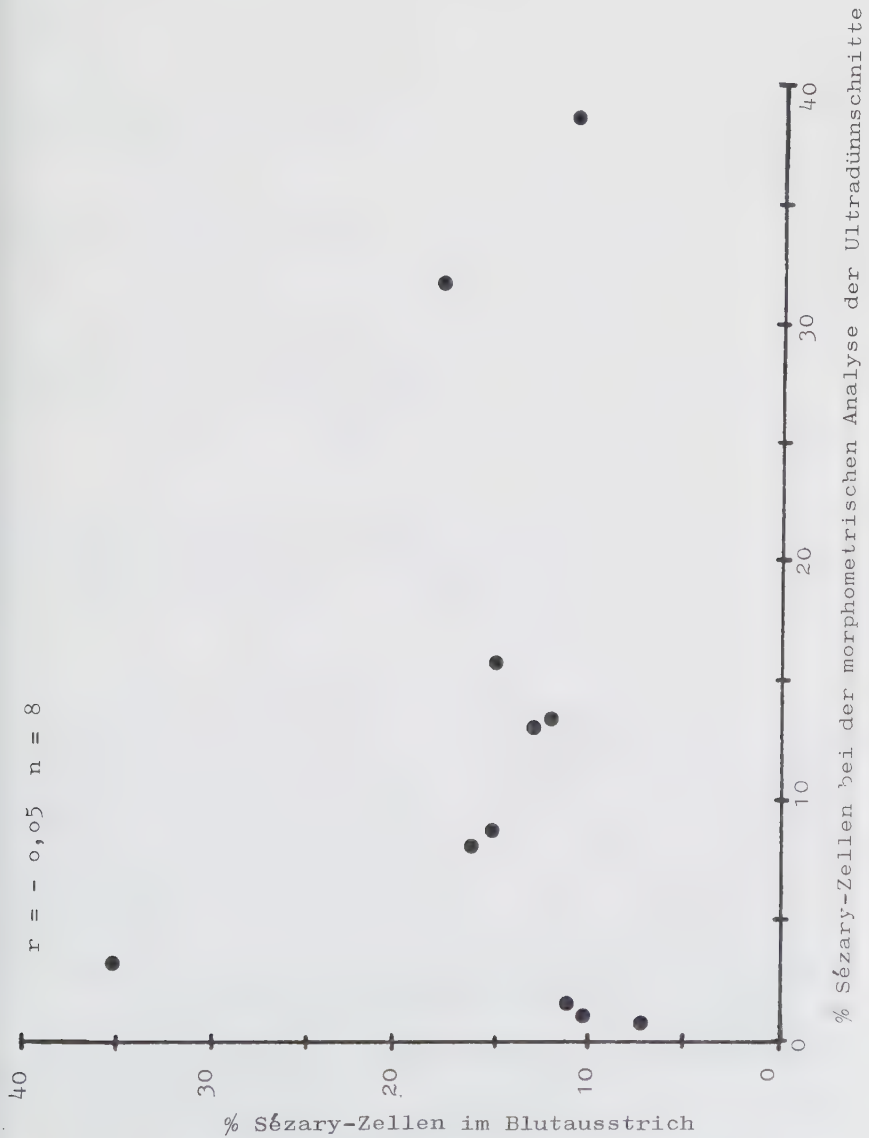
4.8.2 Vergleich zwischen Blutausstrich- und Ultradünnschnitt- untersuchung

In Abb. 20 ist der Prozentsatz der Sézary-Zellen ermittelt im Blutausstrich auf der Ordinate und der Anteil der SC im Ultradünnschnitt auf der Abszisse für die zu vergleichenden Fälle aufgetragen. Der Korrelationskoeffizient beträgt - 0,05. Dies zeigt, daß keine Korrelation zwischen dem Anteil der Sézary-Zellen ermittelt im Blutausstrich und im Ultradünnschnitt besteht.

4.8.3 Vergleich zwischen Semidünnschnitt - und Ultradünnschnittuntersuchung

Der Korrelationskoeffizient beträgt für die Sézary-Zellen 0,81, für die Übergangslymphozyten 0,85 und für die nor-

Abb. 20: Scatterdigramm für die Zahl der Sézary-Zellen unter den lymphoiden Blutzellen im Blutausstrich und bei der morphometrischen Analyse der Ultradünnschnitte bei einigen Blutproben



malen Lymphozyten 0,89. Diese drei Korrelationskoeffizienten sind bei einem $P < 0,001$ alle signifikant und zeigen eine hohe Korrelation an. Die Abbildungen 21 - 23 zeigen für jeden Zelltyp die Scatterdiagramme und Regressionsgeraden von y auf x. Diese werden so berechnet, daß die Streuung der y- Werte minimal ist. Die Gleichungen dieser Regressionsgeraden sind ebenfalls in den Abb. 21 - 23 enthalten. Aus der Steigung der Regressionsgeraden für die SC und aus den Ergebnissen in Tabelle XXII läßt sich erkennen, daß die Zahl der SC im Semidünnschnitt gewöhnlich niedriger als im Ultradünnschnitt liegt.

Falls der Prozentsatz der SC bei beiden Verfahren annähernd gleich groß wäre, müßte die Regressionsgerade eine Steigung in etwa von 1 besitzen.

Nur bei 9 von 37 Blutproben übertrifft die Zahl der SC im Semidünnschnitt die des Ultradünnschnittes. Dabei beträgt die Abweichung maximal 3,2 % und nur in 3 von 9 Fällen mehr als 1,8 %.

Zwar nicht ganz so deutlich, aber doch erkennbar ist dieser Effekt auch bei den Übergangslymphozyten. Bei nur 12 von 37 Fällen ergibt sich ein größerer Wert im Semidünnschnitt mit einer maximalen Differenz von 10,2 %.

Da die Zahl der SC und ÜL im Ultradünnschnitt gewöhnlich größer als im Semidünnschnitt ist, folgt für die normalen Lymphozyten, daß sie üblicherweise im Ultradünnschnitt einen kleineren Wert als im Semidünnschnitt annehmen müßten. Tatsächlich ist nur in 9 von 37 Untersuchungen ein größerer Wert mit einem maximalen Abstand von 12,6 % festzustellen.

4.8.4 Vergleich zwischen Ultradünnschnitt- mit und Ultradünnschnittuntersuchung ohne Morphometrie

Vor allem um die Kriterien für die Einordnung der lymphoiden Zellen in die drei Klassen (ÜL, SC und NL) im Semidünnschnitt

Abb. 21: Scatterdiagramm und Regressionsgerade für die Zahl der Sézary-Zellen im Semidünnschnitt und bei der morphometrischen Analyse der Ultradünnschnitte für alle untersuchten Blutproben

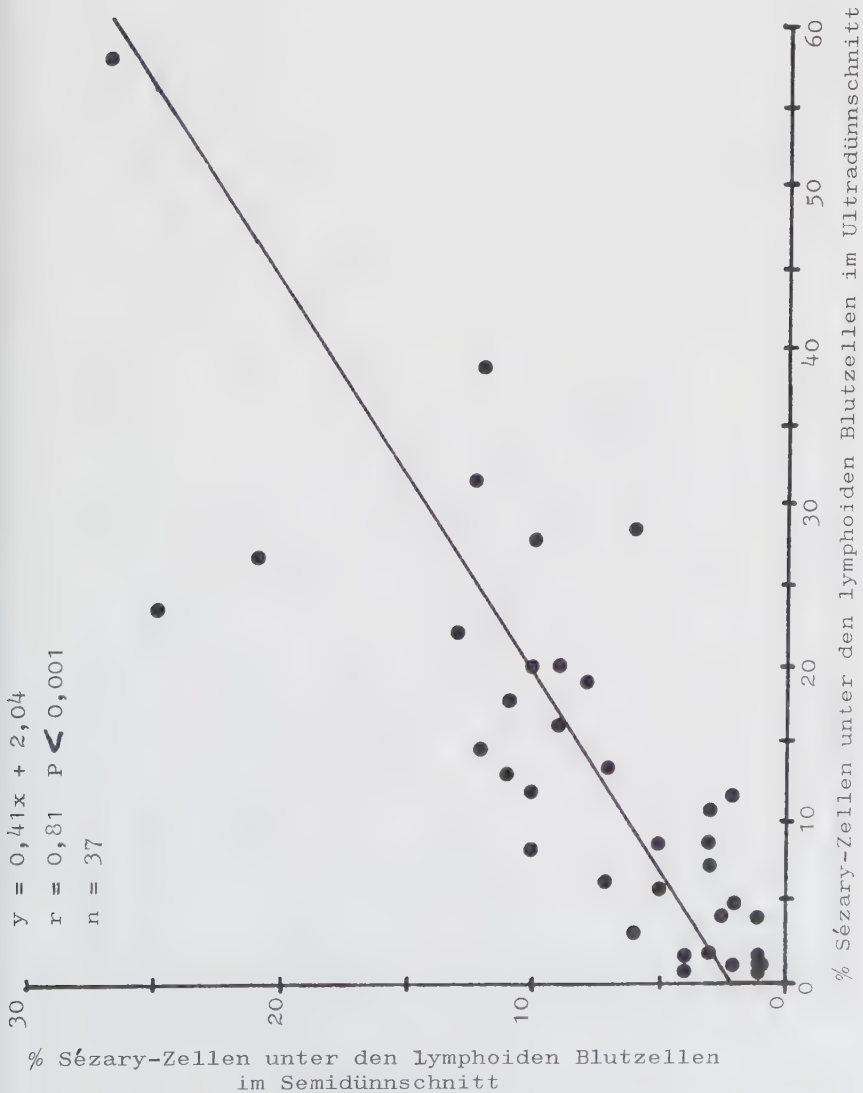


Abb.22: Scatterdiagramm und Regressionsgerade für die Zahl der Übergangslymphozyten unter den lymphoiden Blutzellen im Semidünnschnitt und bei der morphometrischen Analyse der Ultradünnschnitte

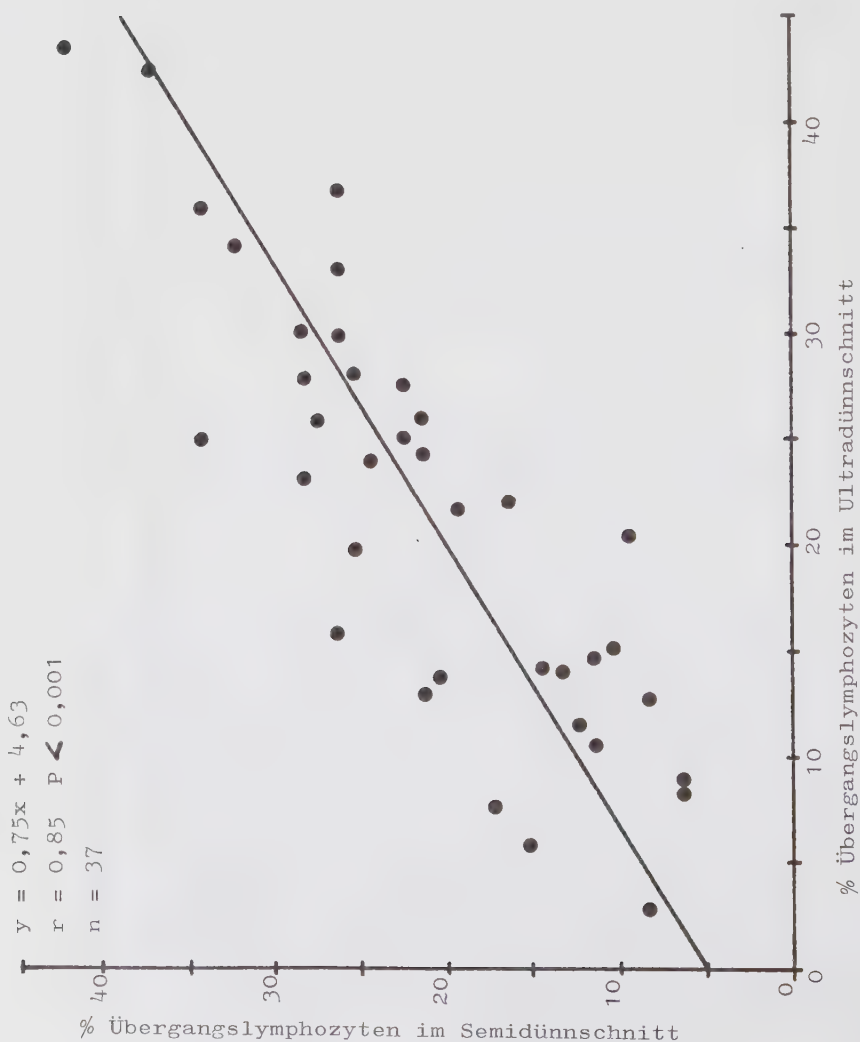
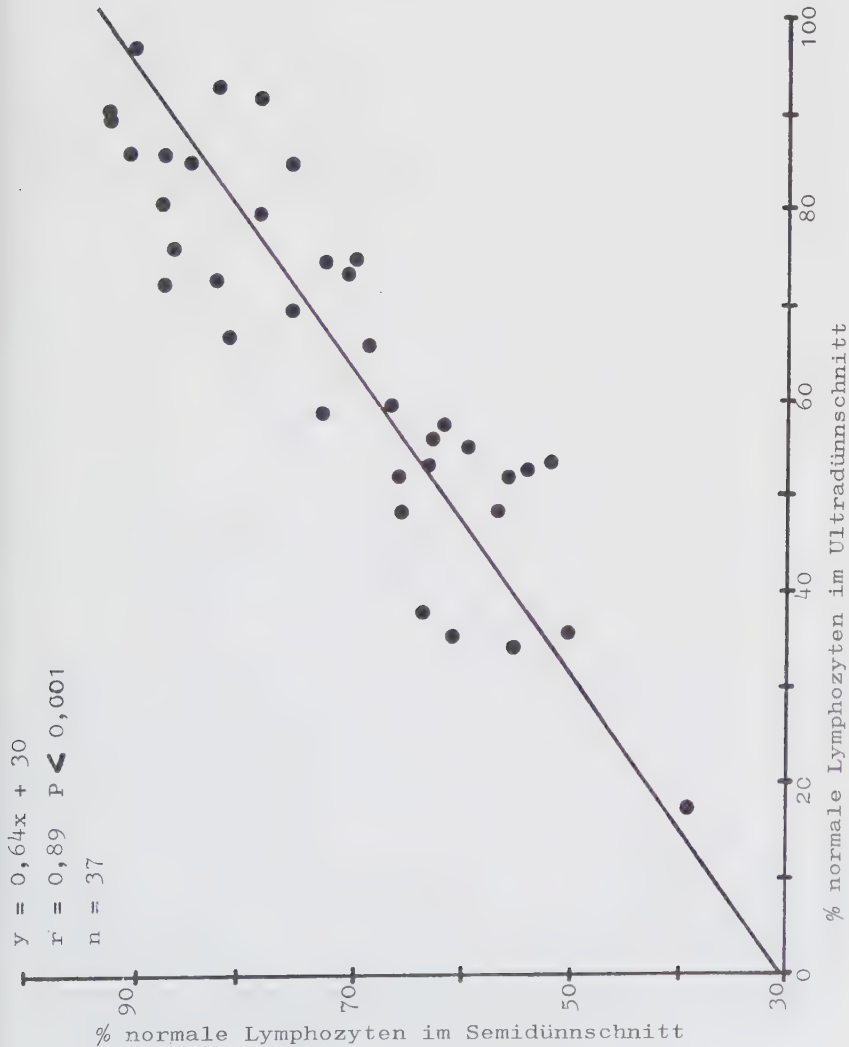


Abb.23: Scatterdiagramm und Regressionsgerade für die Zahl der normalen Lymphozyten unter den lymphoiden Blutzellen im Semidünnschnitt und bei der morphometrischen Analyse der Ultradünnschnitte

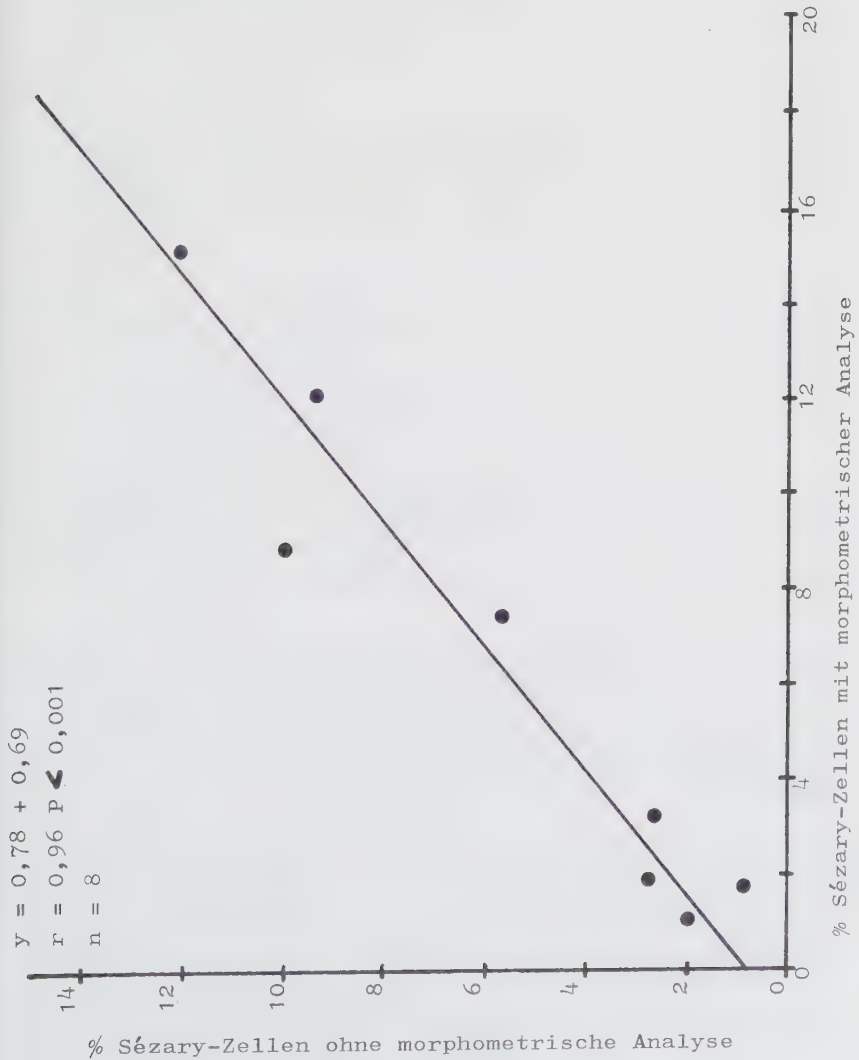


zu überprüfen, wurden bei 8 Blutproben vor der Messung des NCI die Zellen auf den ultrastrukturellen Bildern mit Hilfe dieser Richtlinien klassifiziert.

Die Ergebnisse sind in Tabelle XVII aufgeführt. Es ergeben sich für alle drei Zellarten sehr hohe Korrelationskoeffizienten (für SC und ÜL $r = 0,96$; für NL $r = 0,995$). Diese sind bei einem $P < 0,001$ signifikant und zeigen eine hohe Korrelation an.

Die Abb. 24 zeigt ein Scatterdiagramm, in dem der Prozentsatz der SC, der ohne Morphometrie ermittelt wurde, auf der Ordinate und die Zahl der SC, die mit Hilfe des NCI festgestellt wurde, auf der Abszisse aufgetragen sind. Ebenfalls ist die Gleichung der Regressionsgeraden von y auf x angegeben und die Gerade eingezeichnet.

Abb. 24: Scatterdiagramm und Regressionsgerade für die Zahl der Sézary-Zellen, die sowohl mit (Abszisse) als auch ohne (Ordinate) morphometrische Analyse im Ultradünnschnitt bei einigen Blutproben bestimmt wurde.



5. DISKUSSION

5.1 Einleitung

Im Teil 2 dieser Studie wurden ausgehend von einer Literaturübersicht die noch offenen morphologischen und quantitativen Probleme bei den Sézary-Zellen und beim Sézary-Syndrom formuliert. Aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit können folgende 9 Fragenkomplexe eingehender betrachtet werden:

1. Lassen sich aus unserem Patientengut bezüglich klinischer, anamnestischer oder laborchemischer Daten neue Erkenntnisse gewinnen oder bestätigt sich Bekanntes ?
2. Wie läßt sich die Sézary-Zelle ultrastrukturell charakterisieren und bestehen Auffälligkeiten in der Organisation des Nukleolus ?
3. Gibt es unter den zirkulierenden Sézary-Zellen einzelner Patienten Subpopulationen verschiedener Größe ? Unterscheiden sich die zirkulierenden und organständigen Sézary-Zellen eines Patienten ? Differieren die Sézary-Zellen bei den gleichen oder verschiedenen Erkrankungen in ihrer Größe ?
4. Welche Leistungsfähigkeit besitzen die drei angewandten Untersuchungsmethoden (Blutausstrich-, Semidünnschnittuntersuchung und morphometrische Auswertung der Ultradünnschnitte) ?
5. Bei welchen Erkrankungen und in welcher Quantität treten zirkulierende Sézary-Zellen auf ? Wie viele reichen für die Diagnose eines Sézary-Syndroms aus ? Wie lassen sich nach Abschluß der Untersuchungen die als Pre-Sézary-Syndrom eingestuften Fälle aufgrund der Analyse der lympho-

iden Kerneinbuchtungen einordnen ? Ergeben sich aus der Höhe der Sézary-Zellen bei den einzelnen Patienten Konsequenzen ?

6. Lassen sich durch bestimmte Differenzierungskriterien die lymphoiden Blutzellen bei benignen erythrodermatischen Hauterkrankungen von denen beim Sézary-Syndrom unterscheiden ?
7. Welche Leistungsfähigkeit besitzt die Semidünnschnittuntersuchung der lymphoiden Zellen bei der Abgrenzung zwischen Sézary-Syndromen und gutartigen erythrodermatischen Hauterkrankungen ? Läßt sich diese Differenzierung nur durch das ultrastrukturelle Verfahren erzielen ?
8. Welche Zellzahlen werden für eine Differenzierung zwischen Sézary-Syndromen und gutartigen erythrodermatischen Hauterkrankungen benötigt und welche Einschränkungen ergeben sich in der Zukunft ?
9. Ergeben sich aufgrund der Ergebnisse in dieser Studie neue Aspekte in der Diskussion über die Herkunft, Abstammung und Funktion der Sézary-Zellen ?

5.2 Klinische, anamnestische und laborchemische Daten der kutanen T-Zell-Lymphom-Patienten

Das Sézary-Syndrom wird durch die Symptomentrias Pruritus, Erythrodermie und Lymphadenopathie klinisch charakterisiert. Auch bei unseren acht SS ließen sich diese drei Symptome immer nachweisen. Vier Patienten (siehe Tabelle X) stellten als erstes Symptom einen hartnäckigen Pruritus fest. Taswell und Winkelmann (169) fanden sogar bei 13 von 16 Patienten Juckreiz als erstes Anzeichen der Erkrankung. Als weitere Symptome boten die Patienten dieser Studie (zum Vergleich in Klammern die Prozentsätze aus Tabelle III, die aufgrund von

57 SS, die Huhn et al. (78), Winkelmann (189) und Hamminga et al. (70) beobachtet hatten, zusammengestellt wurde):
Palmare-plantare Hyperkeratosen in 63 % (40 %), eine Onychodystrophie in 50 % (37 %), eine Alopezie in 38 % (40 %), Exkoriationen in 25 % (6 %) und Ödeme ebenfalls in 25 % (72 %). Bei jeweils einem Patienten wurde eine Splenomegalie und eine follikuläre Muzinose, bei jeweils zwei eine durch den Befall der Periorbitalregion verursachte Konjunktivitis und aufgrund der lymphoiden Zellinfiltration entstandene Hauttumoren gesehen. Auch diese Symptome wurden bereits beim Sézary-Syndrom mitgeteilt (→1).

Die Geschlechtsverteilung betrug bei unseren SS 5:3 zugunsten der Frauen, dagegen in Tabelle III 35:22 zugunsten der Männer. Das Alter bei Diagnosestellung schwankt in dieser Studie zwischen 60 - 79 Jahre, bei einem Mittelwert von 71,9 Jahren. Dies stimmt mit Winkelmann (189) und Lutzner et al. (116) überein, die das häufigste Erkrankungsalter zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr ansetzen. Kerl (91) gibt mit 66 Jahren einen niedrigeren Mittelwert an. Von unseren sechs Patienten, die kontinuierlich betreut werden konnten, starben vier zwischen 0,6 - fünf Jahre (Mittelwert: 2,7 Jahre) nach Auftreten der ersten Symptome. Die restlichen zwei leiden am SS bereits 18 Jahre (einschließlich eines prädiagnostischen Intervalls von 14 Jahren) bzw. 4 Jahre (siehe Tabellen X und XI). Dies bedeutet für alle sechs Patienten zusammengerechnet eine mittlere Erkrankungsdauer von mindestens 5,5 Jahren.

Die Überlebenszeit betrug ab der Diagnosestellung dagegen nur noch zwischen 4 und 18 Monate bei den verstorbenen Patienten. Damit stimmen unsere Werte mit denen mehrerer Autoren überein (78, 146, 189), die für das SS auch von einer mittleren Überlebenszeit von fünf Jahren ausgehen. Über eine Geschlechtsabhängigkeit der Überlebenszeit und des Erkrankungsalters, wie sie Winkelmann (189) feststellte, lassen sich aufgrund der geringen Fallzahlen vor allem für die Überlebenszeit keine genauen Angaben machen. Der

Krankheitsbeginn bzw. das Auftreten erster Symptome lag jedoch bei den fünf weiblichen Patienten mit einem Mittelwert von 65,9 Jahren deutlich unter dem der Männer mit einem Mittelwert von 70,3 Jahren. Winkelmann (189) beobachtete mit 55 Jahren für Frauen und 63 Jahren für Männer ebenfalls einen früheren Krankheitsbeginn der Frauen.

Bei unseren acht SS bewegten sich die Leukozyten- und Lymphozytenwerte zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung zwischen 5.200 - 23.600/ μ l (Mittelwert: 14.300/ μ l) bzw. 1.500 - 20.800/ μ l (Mittelwert: 8.200/ μ l). Nach Tabelle III (siehe Kap. 2.1.2) beträgt der Leukozytenmittelwert etwa 20.000/ μ l. Auch wird von einer möglichen Spannweite zwischen 3.000 - 238.000/ μ l (22, 57, 70, 95, 116, 169) berichtet (siehe Kap. 2.1.3), wobei bei Taswell und Winkelmann (169) alle Patienten mehr als 10.400 Leukozyten/ μ l besaßen. Alle angeführten Autoren außer Büchner und Winkelmann (22) berichteten auch von Höchstwerten über 30.000 Leukozyten/ μ l, die bei unserer Studie bei keinem SS festgestellt werden konnten. Dieses Ergebnis und der Mittelwert von 14.300 Leukozyten/ μ l spricht dafür, daß sich die von uns untersuchten Sézary-Syn-drome in einem relativ frühen Stadium befanden. Diese Annahme wird auch durch die Lymphozytenwerte unterstützt, die bei anderen Untersuchungen 680 - 68.000/ μ l (57), 8.500 - 240.000/ μ l (50), 900 - 43.000/ μ l (70) und 3.300 - 18.100/ μ l (22) betrugen, also im Durchschnitt deutlich höher lagen. Diese Zahlen lassen jedoch ebenfalls erkennen, daß manche SS eine absolute Lymphopenie besitzen. Dies konnte bei unseren SS nicht beobachtet werden.

Huhn et al. (78) diagnostizierten bei 6 von ihren 28 Patienten eine normochrome Anämie ($Hb < 12g/100\text{ ml}$) und bei einem SS eine Thrombozytopenie ($< 150.000/\mu$ l). Bei unseren Fällen lag bei keinem zum Zeitpunkt der ultrastrukturellen Blutuntersuchung der Hämoglobingehalt des Blutes unter $12g/100\text{ ml}$ und nur bei zwei die Thrombozytenzahl unter 150.000/ μ l.

Dies unterstreicht die schon von Sézary (156) gemachte und immer wieder sich bestätigende Beobachtung, daß das Knochen-

mark und damit die Systeme der Hämatopoese relativ spät von den SS infiltriert werden.

Kerl (91) beobachtete meistens eine BKS - Erhöhung beim Sézary-Syndrom. Wir stellten bei zwei Patienten eine leichte und bei einem weiteren Erkrankten eine stärkere BKS - Beschleunigung fest. Allerdings war diese auch bei zwei MF-Fällen und bei 6 von 10 gutartigen Hauterkrankungen nachweisbar. Daher dürfte eine BKS - Erhöhung in der Differentialdiagnose zwischen Sézary-Syndromen und Erythrodermien bei gutartigen Hauterkrankungen nicht zu verwerten sein.

Kövary et al. (96) stellten bei 4 von 13 SS eine monoklonale Gammopathie fest. Wir konnten bei 7 SS, bei denen eine Immunelektrophorese angefertigt wurde, keine monoklonale Gammopathie finden. Obwohl ein Vorliegen dieser das Konzept einer exzessiven T- Helfer - Zellen - Vermehrung beim Sézary-Syndrom sehr unterstützen würde, scheint eine Paraproteinämie beim SS doch ein selteneres Ereignis zu sein. Kövary et al. (96) konnten in der Weltliteratur nur 9 Fälle einschließlich ihrer eigenen finden.

Mehrmals wurde bereits von Ig E- Erhöhungen im Serum von MF- Patienten berichtet (117, 166), die jedoch nicht immer signifikant (197) oder häufig zu sein brauchten (39, 124). Von den hier untersuchten Patienten zeigten 3 von 7 an MF Erkrankte eine Ig E-Erhöhung (> 100 U/ml), jedoch auch bei drei gutartigen Hauterkrankungen war diese nachweisbar, wobei bei EO ein Ig E-Spiegel von 17.000 U/ml festgestellt wurde. Eine massive Ig E- Vermehrung mit 3.700 U/ml wurde auch bei einem Pre-SS (HS) gefunden.

Von den 8 SS befanden sich zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung (siehe Tabelle X) 1 SS im Stadium IIId, 4 SS im Stadium IIIId und 3 SS im Stadium IVd. Von letzteren verstarben innerhalb eines Vierteljahres nach der Blutuntersuchung zwei Patienten und die dritte konnte nur noch einen Monat beobachtet werden. Die längste Überlebenszeit (4 Jahre nach der Blutuntersuchung und insgesamt 18 Jahre seit Beginn der Hautläsionen) erreich-

te das einzige SS im Stadium IIId (siehe Tabellen X und XI). Von den Fällen im Stadium IIIId konnten drei kontinuierlich überwacht werden, von denen ein Jahr nach der Blutuntersuchung nur noch FG lebte.

Epstein et al. (54) gaben aufgrund ihrer Untersuchungen bei der MF für das Stadium III eine mittlere Überlebenszeit von 18 Monaten und für das Stadium IV von drei Monaten an. Ähnliches dürfte auch für das SS gelten; denn in unserer Studie läßt sich für Stadium IIIId 13 Monate und für IVd 2 Monate als mittlere Überlebenszeit nach der Blutuntersuchung angeben.

Bei allen vier verstorbenen SS- Patienten konnte post mortem ein Stadium IVd gesichert werden.

Zusammenfassung:

Die klinischen, anamnestischen und laborchemischen Daten unserer Patienten lassen sich gut mit den bisher publizierten Ergebnissen vereinbaren. Allerdings konnten wir im Unterschied zu anderen Autoren keine so hohen Mittelwerte und so große Spannweiten für die Zahl der zirkulierenden Lymphozyten und Leukozyten beobachten.

5.3. Die Charakteristik der Sézary-Zelle

Das herausragende Merkmal der Sézary-Zellen ist ihr stark eingebuchteter Kern. Doch obwohl diese Definition sehr einfach erscheint, ist es vor allem im Semidünnschnitt schwierig zu entscheiden, ab welcher Einbuchtungstiefe und -zahl eine lymphoide Zelle als SC bezeichnet werden muß.

Bei Ultradünnschnitten benützten als erste Litovitz und Lutzner (108) den von Schrek (153) erfundenen nuclear contour index (NCI), um die lymphoide Zellpopulation hinsichtlich der Kerneinbuchtungen genauer zu beschreiben. Van der Loo et al. (175) forderten für eine Sézary-Zelle einen $NCI > 6,5$. Wir sprechen ebenfalls bei einem $NCI > 6,5$ von einer

Sézary-Zelle.

Da der NCI in Semidünnschnitten nicht anzuwenden ist und festgestellt werden konnte, daß bei jeder Zelle mit einem $NCI > 6,5$ die Summe aller Einbuchtungen das 1,5fache des größten Kerndurchmessers überstieg, wurde diese Definition dazu verwandt, um im Semidünnschnitt die SC zu charakterisieren. Die "Nicht-Sézary-Zellen" unterteilten wir in zwei weitere Gruppen: die Übergangslymphozyten (ÜL) und die normalen Lymphozyten (NL). Die Summe der Einbuchtungen beträgt bei den NL weniger als die Hälfte und bei den ÜL mehr als die Hälfte und weniger als das 1,5fache des größten Kerndurchmessers.

Bis jetzt wurden in der Literatur mehrere Definitionen für die Sézary-Zellen mitgeteilt (siehe Kap. 2.4.1.2):

Dabei sind die Kriterien von Schmoeckel et al. (150) strenger und die von Meijer et al. (122) und Guccion et al. (66) leichter als unsere, die in etwa den von Zucker-Franklin et al. (202) beschriebenen entsprechen. Noch kein Untersucher konnte jedoch die Validität seiner Einteilungskriterien überprüfen: dies war jetzt mit Hilfe des NCI möglich, indem diese Kriterien an Ultradünnschnitten angewandt wurden und danach die gleichen Zellen durch den NCI klassifiziert wurden. Es ergaben sich für die SC und ÜL Korrelationskoeffizienten von 0,76, für die NL sogar von 0,995. Alle drei sind für $P < 0,001$ signifikant.

Smetana et al. (161) beschrieben bei SC eine Reifungsasynchronie zwischen Nukleolus und Zytoplasma, die sich in der Kombination eines ringförmigen Nukleolus mit einem ribosomenreichen Zytoplasma oder eines ribosomenarmen Zytoplasmas mit einem Nukleolus mit einem Nukleonema äußert. Die Sézary-Zellen, die in dieser Studie untersucht wurden, zeigten in den meisten Fällen ein ribosomenarmes Zytoplasma. In der überwiegenden Zahl der Fälle war dieses vergesellschaftet mit Nukleoli mit Nukleonemas. Bei einem SS besaßen die SC zwar sehr viele Ribosomen im Zytoplasma, aber aller-

dings oft auch ringförmige Nukleoli. Diese Beobachtungen lassen ebenso bei unseren SC auf eine Reifungsasynchronie zwischen Kern und Zytoplasma schließen. Diese ist bei menschlichen Neoplasien einschließlich der der Lymphozyten und Plasmazellen nicht selten (8, 159, 161).

Zusammenfassung:

Ab einem NCI > 6,5 kann eine lymphoide Zelle als SC bezeichnet werden. Die Summe ihrer Kerneinbuchtungen übertrifft dann das 1,5fache des größten Kerndurchmessers. Bei der Mehrzahl der SC mit sichtbarem Nukleolus konnte eine Reifungsasynchronie zwischen Kern und Zytoplasma festgestellt werden.

5.4 Die Größe der Sézary-Zellen im Ultradünnschnitt

5.4.1 Die Sézary-Zelle beim Sézary-Syndrom

Bei allen 9 SS liegt die Größe der SC im Ultradünnschnitt unter 11,4 μ m. Diese Größenangaben stehen im Gegensatz zu den von Vonderheid et al. (184) ermittelten Werten, die vor allem SC mit mehr als 11 μ m Durchmesser im Blutaussstrich beobachteten. Die Tabelle XXV zeigt die Größe der SC im Blutaussstrich bei den veröffentlichten SC-Bildern. Auch hier wurden nur in 3 von 28 Fällen SC mit einem kleineren Durchmesser als 11 μ m festgestellt. Dagegen publizierten nur Lutzner et al. (115, 116) und Zucker-Franklin et al. (202) ultrastrukturell fotografierte SC mit mehr als 10 μ m Durchmesser. Alle 23 anderen in Tabelle XXV aufgeführten SC besaßen kleinere Werte.

Die Ursache dieser starken Diskrepanz zwischen Blutaussstrich und Ultradünnschnitt liegt zuerst darin, daß ultrastrukturell nur geschnittene Zellen gemessen werden und da diese meistens nicht am Äquator, also am Punkt ihrer größten Ausdehnung getroffen werden, liegt der Durchmesser d (des Schnittes) unter dem wirklichen Durchmesser D, der im Blutaussstrich immer beobachtet werden kann.

Tabelle XXV: Die Größe der publizierten zirkulierenden Sézary-Zellen im Blutaussstrich und in der Elektronenmikroskopie in /um (falls nichts anderes angegeben beim Sézary-Syndrom)

Blutaussstrich

Clendenning et al. 1964 (35) (MF)	22,2	23,9	23,9	10,6	16
Lutzner und Jordan 1968 (113)	15,7	11,4	12,1		
Gomez Orbaneja et al. 1972 (63)	26				
Lutzner et al. 1973 (115)	20	19	13	14	
Flandrin und Brouet 1974 (57)	25	19,2	15		
Hoagland 1974 (75)	14	17	22		
Lawrence et al. 1978 (104)	10,5	12,6			
Löffler 1980 (110)	15,7	15	14,3	8,6	
Pincelli et al. 1980 (131)	16	9			
Büchner 1981 (21)	28				

Elektronenmikroskopie

Lutzner und Jordan 1968 (113)	6,4	6,6	6,9		
Lutzner et al. 1971 (114)	7,1				
Huhn et al. 1972 (78)	5,8				
Lutzner et al. 1973 (115)	12	12,5	14,3	14,3	
Zucker-Franklin 1974 (201)	7,5				
Zucker-Franklin et al. 1974 (202)	7,3	7,3	7,6	7,7	
	8,2	8,2	8,5	9,1	10
Lutzner et al. 1975 (116)	16,7	10,7			
Zucker-Franklin 1976 (203)	6,4	7,2	9,4		
Meijer et al. 1977 (122)	8,2	9,1			
Smetana et al. 1977 (161)	8,3				
Vance et al. 1977 (172)	5,4				
Braun-Falco et al. 1978 (14)	5				
Büchner 1981 (21)	10				

Um den Faktor, mit dem der Mittelwert aus allen SC-Durchmessern im Ultradünnschnitt ($\bar{d}$) multipliziert werden muß, um $\bar{D}$ (den Mittelwert der SC-Durchmesser der nicht geschnittenen Zellen) zu erreichen, bestimmen zu können, wurden auch die Durchmesser von 466 lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen gemessen: Es ergab sich für die 466 Zellen ein $\bar{d}$ von 6,09 μm . Dardick et al. (42) untersuchten bei 152 normalen Lymphozyten im Semidünnschnitt die Zelldurchmesser und fanden 79 % der Zellen mit einem d zwischen 3,4 und 5,56 μm und 21% der Zellen mit einem d zwischen 5,56 und 7 μm . Auch in unserer Studie lagen rund 80% der lymphoiden Blutzellen der Gesunden unter 7 μm .

Litovitz und Lutzner (108) maßen bei 5 gesunden Normalpersonen im Blutaussstrich ein $\bar{D}$ von 8,8 μm . Da der Mittelwert des NCI der lymphoiden Blutzellen für diese Personen 4,4 betrug und er sich bei unseren Gesunden zwischen 4,0 bis 4,2 bewegte, kann davon ausgegangen werden, daß sich die Zellpopulationen hinsichtlich der Kerneinbuchtungen nicht wesentlich unterscheiden.

Folglich sind die Größenunterschiede wohl auf die Anwendung zweier verschiedener Untersuchungsmethoden (Blutaussstrich-Elektronenmikroskopie) zurückzuführen. Der mittlere Durchmesser $\bar{D}$ liegt etwa um den Faktor 1,44 höher als $\bar{d}$.

Anscheinend ist für diese Größendifferenz nicht nur allein die Auswertung von Zellschnitten verantwortlich: Mit mathematischen Modellen läßt sich dieser Effekt beschreiben: Falls es sich um Schnittflächen kugelförmiger Gebilde gleicher Größe handelt, ist die Formel von Abercrombie (zitiert aus Williams (188)) anzuwenden:

$$\bar{D} = \bar{d} \cdot \frac{4}{\pi}$$

Danach wäre $\bar{D}$ etwa 1,27 mal größer als $\bar{d}$. Weil aber bei unseren Zellen nicht Schnittflächen kugelförmiger Gebilde gleicher Größe vorliegen, sondern die lymphoiden Zellen eher als Ellipsen mit unterschiedlicher Ausdehnung betrachtet werden

müssen, sind speziellere Verfahren für die Ermittlung von $\bar{D}$ aus $\bar{d}$ nötig.

Mit der Methode Saltykows (zitiert aus Williams (188)) ergibt sich für die lymphoiden Zellen Gesunder in dieser Arbeit ein $\bar{D}$ von $6,50\text{ }\mu\text{m}$, also etwa ein Korrekturfaktor von 1,07. Folglich ist von dem Faktor 1,44, um den sich hier die Lymphozyten Gesunder im Durchmesser unterscheiden, ein Anteil von 1,07 auf den Unterschied zwischen geschnittenen und nicht geschnittenen Zellen und der restliche von 1,34 auf andere Ursachen zurückzuführen. Letztere könnten darin bestehen, daß einerseits eine Zellschrumpfung bei der Zellpräparation für die ultrastrukturelle Analyse und andererseits eine Zellausbreitung beim Herstellen des Blutausstrichs auftritt.

Nach unseren Überlegungen ist also zumindest beim Vergleich lymphoider Zellen gesunder Normalpersonen zwischen Blutausstrich und Elektronenmikroskopie der ultrastrukturell erzielte Durchmesser der Zellen mit durchschnittlich 1,44 (um diesen Faktor nicht nur im Durchschnitt, sondern genau angeben zu können, müßte bekannt sein, in welchem Abstand vom Äquator die betreffende Zelle geschnitten worden ist) zu multiplizieren, um in etwa die im Ausstrich zu beobachtenden Ausmaße zu erreichen.

Da sich bei den Größenmessungen der SC keine grundsätzlichen Unterschiede zu den oben erwähnten Überlegungen ergeben, muß auch hier der ultrastrukturelle Durchmesser zum Ausgleich der methodisch bedingten Differenzen mit 1,44 multipliziert werden.

Unsere Schranken für die Größeneinteilung der SC ($6\text{ }\mu\text{m}$ und $8\text{ }\mu\text{m}$) würden danach im Blutausstrich $8,6\text{ }\mu\text{m}$ und $11,5\text{ }\mu\text{m}$ entsprechen.

Litovitz und Lutzner (108) maßen auch bei 12 SS die Durchmesser von 50 lymphoiden Zellen im Blutausstrich und erreichten Mittelwerte zwischen 8 und $14\text{ }\mu\text{m}$, wobei die einzelnen Zellen zwischen 7 und $19\text{ }\mu\text{m}$ lagen. Wir ermittelten bei den 12

Blutproben der SS Mittelwerte zwischen 4,89/ μ m und 7,53/ μ m, korrigiert mit 1,44 ergeben sich 7,0/ μ m und 10,8/ μ m. Trotz des Ausgleichs der methodisch bedingten Differenzen lagen also noch mehrere von Litovitz und Lutzner (108) gemessenen Mittelwerte höher als unsere.

Vonderheid et al. (184) beobachteten im Blutaussstrich auch größere SC als in dieser Studie. In allen 9 Fällen überwogen SC mit mehr als 11/ μ m Durchmesser die kleineren SC. Dies war bei nur einer (LKII) unserer 12 Blutproben - falls der Korrekturfaktor von 1,44 einbezogen wurde - der Fall. Wir fanden nur 12 von 545 SC beim SS mit einem (mit 1,44 korrigierten) Durchmesser von mehr als 13/ μ m und im Blutaussstrich hätte unsere größte SC nur 16,4/ μ m Durchmesser besessen.

Vonderheid et al. (184) untersuchten dagegen sogar 2 SS, bei denen mehr SC über 15/ μ m als darunter vorkamen.

Flandrin und Brouet (57) teilten die SC im Blutaussstrich in große (Durchmesser zwischen 12 - 20/ μ m) und kleine SC (8-11/ μ m) ein und stellten zwischen beiden Gruppen morphologische Unterschiede fest (siehe Kap. 2.4.1.1). Ultrastrukturell fielen uns zwischen SC unterschiedlicher Größe keine besonderen Differenzen auf. Von den 25 SS, die Flandrin und Brouet (57) beobachteten, waren nur bei 10 SS große SC feststellbar. Allerdings überwogen diese bei 9 SS die kleinen SC. Werden die in dieser Studie gemessenen Durchmesser der SC mit dem Korrekturfaktor von 1,44 für die methodisch bedingte Differenz multipliziert, entsprechen die von uns als große SC bezeichnete Zellen den großen SC Flandrins und Brouets (57). Von den hier untersuchten 12 Blutproben dominierten aber bei keiner die großen SC über die kleinen und mittelgroßen SC.

Zusammengefaßt beobachteten sowohl Litovitz und Lutzner (108) als auch Vonderheid et al. (184) sowie Flandrin und Brouet (57) trotz der Korrektur der ultrastrukturell erzielten Durchmesser mit 1,44 größere SC als in dieser Studie. Allerdings waren bei fast allen SS von Vonderheid et al. (184) und von

Flandrin und Brouet (57) höhere absolute SC/ μ l Blut mit bis zu 23.500 SC/ μ l bzw. 63.000 SC/ μ l festzustellen. Möglicherweise nimmt die Größe der SC bei einer Erhöhung der absoluten SC-Werte im Blut zu, da beides ein Anzeichen für eine verstärkte Proliferation der SC darstellen könnte.

Ein Rückschluß von der Zellgröße auf den DNA-Inhalt der SC ist nicht ohne weiteres möglich. Crossen et al. (41) fanden auch in kleinen SC Kerne mit mehr als tetraploiden Chromosomenzahlen (siehe Kap. 2.4.1.1). Vonderheid et al. (184) untersuchten die lymphoiden Blutzellen bei 9 SS bezüglich des DNA-Inhalts und der Chromatinverteilung im Kern (siehe Kap. 2.4.1.1) und konnten mit diesen Kriterien bei 8 Patienten zwei oder mehr Subpopulationen nachweisen. Dabei korrelierte nur die Zahl der lymphoiden Zellen mit tetraploidem DNA-Inhalt mit der der großen SC.

Über den DNA-Inhalt bei den hier untersuchten SC lassen sich daher wegen des ungeklärten Zusammenhangs zwischen der Größe der SC und ihrem DNA-Inhalt keine verlässlichen Aussagen treffen.

Mehrere Autoren (57, 184, 203) beobachteten im Blutaussstrich ein Nebeneinander von kleinen und großen SC. Dieses Phänomen durch die Auswertung ultrastruktureller Bilder zu verifizieren, ist sehr schwierig, da die mittelgroßen und kleinen SC nur tangential geschnittene große SC und die kleinen SC tangential getroffene mittelgroße SC darstellen könnten. Für eine genaue Untersuchung wieviele Subpopulationen der SC bezüglich der Größe innerhalb der einzelnen Blutproben existieren, wäre eine Analyse von etwa 1500 - 2000 SC (188) nötig. Diese Größenordnung wurde bei keiner Blutprobe auch nur annähernd erreicht. Werden alle 12 Blutproben der SS betrachtet, lassen sich allerdings aufgrund sowohl des Mittelwerts für die Zelldurchmesser als auch des Prozentsatzes der kleinen, mittelgroßen und großen SC SS mit dominierender Zahl großer bzw. kleiner SC abgrenzen. Durch die einfache Varianzanalyse bestätigte sich der Verdacht, daß nicht alle SC der 8 SS bezüglich des Zelldurch-

messers aus der gleichen Grundgesamtheit stammen. Mit Hilfe des Scheffé-Testes auf lineare Kontraste ließ sich weitergehend sichern, daß die SC von LL eine andere Größenverteilung besitzen als die SC von GH, GK, LKII und FGIII. Dieses Ergebnis stimmt mit den Beobachtungen Flandrins und Brouets (57) sowie Vonderheids et al. (184) überein, die zwar ein Nebeneinander von kleinen und großen SC beobachtet hatten, aber doch in den meisten Fällen ein klares Überwiegen einer Zellgruppe.

Auch Litovitz und Lutzner (108) beobachteten - allerdings bei der Größenmessung aller lymphoiden Zellen - eine noch größere Schwankung der Mittelwerte ($6\text{ }\mu\text{m}$ gegenüber $2,66\text{ }\mu\text{m}$ in dieser Studie). Jedoch liegen die Zelldurchmesser im Blutaussstrich - wie oben erwähnt - $1,44$ mal höher, so daß auch bei der Variation der Mittelwerte dieser Faktor beim ultrastrukturellen Wert berücksichtigt werden muß. Es ergibt sich aber immer noch mit $3,8\text{ }\mu\text{m}$ ein viel kleinerer Wert.

Nicht beweisen ließen sich im Scheffé-Test Unterschiede in der Größenverteilung der SC bei sukzessiv analysierten Blutproben der gleichen Patienten.

Dagegen konnte im Chi-Quadrattest ein Unterschied in der Größenverteilung der SC zwischen SS und Pre-SS verifiziert werden.

5.4.2 Die Sézary-Zelle bei der Mycosis fungoides

Im Chi-Quadrattest ergibt sich bei einem Größenvergleich zwischen den zirkulierenden SC bei der MF und des SS ein signifikantes Ergebnis, das besagt, daß bei der MF viel mehr kleine SC zu finden sind. Diese Differenz könnte einen neuen Aspekt in der nosologischen Diskussion über die Beziehung zwischen MF und SS darstellen. Allerdings ist für generelle Aussagen Vorsicht geboten, da die Größenverteilung der SC bei der MF vor allem durch FU wegen der großen

Zahl der SC in dieser Blutprobe bestimmt wird und das Ergebnis von FU nicht unbedingt für die MF repräsentativ zu sein braucht. Weitere Untersuchungen sind daher für diese Frage notwendig.

Bei FP konnten die SC-Durchmesser in je einer Haut-, Lymphknoten- und Blutprobe bestimmt werden. Dabei ergab sich zwischen Blut und Lymphknoten eine im Chi-Quadratstest signifikante Differenz in der Größenverteilung der SC. In der Lymphknotenbiopsie dominierten die großen SC, dagegen unter den zirkulierenden SC die mittelgroßen.

Shackney et al. (157) vermuteten, daß die SC im Lymphknoten proliferieren und über das Blut in die Haut einwandern. Falls dieser Weg sich als richtig erweisen sollte, müßten sie dabei ihre Größe reduzieren. Vielleicht könnte die Differenz der Zelldurchmesser auch dadurch bedingt sein, daß die "Blut-SC" bei der Zellpräparation stärkeren Schrumpfungsprozessen als die "Lymphknoten-SC" ausgesetzt sind.

5.4.3 Die Sézary-Zelle bei benignen Hauterkrankungen

Im Chi-Quadratstest ließ sich ein Unterschied in der Größenverteilung zwischen SC bei gutartigen Hauterkrankungen und beim SS nicht beweisen. Die SC lassen sich also aufgrund ihres Durchmessers nicht in benigne und maligne einteilen.

5.4.4 Die Sézary-Zelle im Vergleich mit lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen

Durch den Chi-Quadratstest läßt sich eine unterschiedliche Größenverteilung zwischen allen analysierten SC und den lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen nachweisen. Die SC besitzen im Durchschnitt einen höheren Zelldurchmesser. Damit bestätigen sich die bereits von Sézary (156) und Taswell und Winkelmann (169) lichtmikroskopisch erhobenen Befunde auch ultrastrukturell. Allerdings gilt dies nur, falls der Mittelwert aller SC-Durchmesser betrachtet wird.

Der Durchmesser einiger SC kann durchaus unter dem normaler Lymphozyten liegen (z.B. erreicht keine SC bei LL 8, μ m, wohl aber einige lymphoide Zellen gesunder Normalpersonen überschreiten diese Marke).

5.4.5 Zusammenfassung

Die ultrastrukturell gewonnenen Zelldurchmesser liegen durchschnittlich um 1,44 niedriger als die im Blutaussstrich. Dieser Faktor wurde durch einen Vergleich der Zelldurchmesser lymphoider Zellen gesunder Normalpersonen im Blutaussstrich und Ultradünnschnitt errechnet.

Trotz des Ausgleichs dieser methodisch bedingten Differenz wurden in dieser Studie kleinere SC als bei anderen Autoren beobachtet. Möglicherweise nimmt die Zellgröße mit der Zahl der SC/ μ l Blut zu oder wir sahen nur kleinzellige Varianten der zirkulierenden SC.

Nicht alle SC der 12 Blutproben der SS stammen bezüglich der Größe aus der gleichen Grundgesamtheit.

Eine unterschiedliche Größenverteilung der SC konnte zwischen den SS und der MF, den SS und den Pre-SS sowie zwischen einer Lymphknoten- und Blutprobe des T-immunoblastischen Lymphoms (FP), nicht aber zwischen den SS und benignen Hauterkrankungen nachgewiesen werden. Auch differieren, falls die Gesamtzahl der Zellen betrachtet wird, die Durchmesser der SC und der lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen.

5.5 Die Leistungsfähigkeit der angewandten Untersuchungsmethoden im Vergleich mit der morphometrischen Analyse des Ultradünnschnittes

5.5.1 Die Blutaussstrichuntersuchung

Einige Autoren halten eine Untersuchung eines dünnen und optimal gefärbten Blutaussstrichs zur Entdeckung der zirkulierenden SC für ausreichend (16, 70, 110, 113). Andere

erkennen Schwierigkeiten an, die SC bei einer Lymphopenie (57, 144) oder vor allem die SC mit engen Kerneinbuchtungen (50, 75, 95, 96, 203) nicht zu übersehen.

Myrie et al. (126) verglichen die Validität der Ausstrichuntersuchung mit der der ultrastrukturellen Methode bei 33 Patienten mit SS und MF und fanden die Blutausstrichuntersuchung als nicht verlässlich. Braylan et al. (16) unternahmen den gleichen Vergleich bei 5 SS und erzielten eine ganz gute Korrelation. Allerdings betrug dabei die Zahl der SC unter den lymphoiden Zellen immer mehr als 77%. Bei drei MF-Patienten ermittelten sie im Blutausstrich keine SC. Obwohl bei diesen Fällen keine ultrastrukturelle Untersuchung erfolgte, läßt sich aufgrund der Ergebnisse Myries et al. (126), van der Loos et al. (177) sowie dieser Studie, die zeigten, daß bei fast jeder MF zirkulierende SC nachweisbar sind, die Validität der Blutausstrichanalyse zumindest bei wenigen zirkulierenden SC als gering ansehen. Zu dem gleichen Ergebnis kamen auch wir in dieser Arbeit bei einem Vergleich der Prozentsätze der SC, die im Blutausstrich und in Ultradünnschnitten mit Hilfe des NCI bei 11 Patienten mit SS, Pre-SS, MF und benignen Hauterkrankungen ermittelt wurden. Es ließ sich ein Korrelationskoeffizient von $-0,05$ errechnen, der keinen Zusammenhang zwischen Blutausstrich- und Ultradünnschnittanalyse erkennen läßt. Nach den bisher vorliegenden Vergleichen eignet sich also erstere für die Entdeckung der SC unter den lymphoiden Zellen nicht.

5.5.2 Die Semidünnschnittuntersuchung

Die Semidünnschnittuntersuchung erwies sich bereits als eine einfache und nützliche diagnostische Methode für Hautläsionen (150) und Blutzellen (126) bei T-Zell-Lymphomen. Gegenüber der morphometrischen Analyse der Ultradünnschnitte erfordert die Semidünnschnittanfertigung und -auswertung viel weniger Aufwand. Deshalb lassen sich auch leichter höhere Zell-

zahlen untersuchen und dies ermöglicht eine Verkleinerung des 95%-Vertrauensintervalls.

Die Semidünnschnittanalyse ist jedoch der ultrastrukturellen Methode in einigen Punkten deutlich unterlegen:

- a) Die Monozyten lassen sich ultrastrukturell aufgrund ihrer charakteristischen Granula viel leichter von lymphoiden Zellen differenzieren. Im Semidünnschnitt läßt sich die Abtrennung nur durch die weniger sicheren Kriterien einer kleineren Kernplasmarelation und plumperen Kerneinfaltungen treffen.
- b) Im Semidünnschnitt sind besonders enge Einbuchtungen schlecht sichtbar.
- c) Da nur bei Ultradünnschnitten die Morphometrie angewandt werden kann, können auch nur hier die Einbuchtungen in ihrer Wertigkeit genau bestimmt werden.
- d) Durch die Anwendung des NCI läßt sich eine höhere Reproduzierbarkeit der Einordnung einer Zelle in die drei Klassen (NL, ÜL und SC) erzielen als nur mit den Kriterien des Semidünnschnittes.

In dieser Studie wurden bei 37 Blutproben die Ergebnisse im Semidünnschnitt denen der mit Hilfe des NCI ausgewerteten Ultradünnschnitte gegenübergestellt. Es ergab sich für die NL ein Korrelationskoeffizient von 0,89, für die ÜL einer von 0,85 und für die SC einer von 0,81. Diese sind bei einem $P < 0,001$ alle signifikant und zeigen eine hohe Korrelation an. Allerdings lag die Zahl der SC im Semidünnschnitt in dieser Untersuchung meistens niedriger als die der SC im Ultradünnschnitt (im Durchschnitt betrug sie im Semidünnschnitt nur 41% des Anteils der SC im Ultradünnschnitt; bei einigen Blutproben (FU,FB) wurden sogar nur weniger als 25% der ultrastrukturell ermittelten SC im Semidünnschnitt festgestellt). Nur bei 9 von 37 Blutproben übertraf die Zahl der SC im Semidünnschnitt die des Ultradünnschnitts. Dabei erreichte die

Abweichung maximal 3,2% und nur in 3 von 9 Fällen mehr als 1,8%. Ähnliches galt auch für die ÜL. Erwartungsgemäß verhielten sich die NL diskordant zu den ÜL und SC (siehe Kap. 4.8.3). Die geringere Zahl der SC und ÜL im Semidünnschnitt erklärt sich wahrscheinlich durch einige nur elektronenmikroskopisch sichtbare feine Kerneinbuchtungen. Die gelegentliche Überschätzung der Zahl der SC im Semidünnschnitt im Vergleich zur Elektronenmikroskopie könnte sowohl auf der Schwankungsbreite des 95%-Vertrauensintervalls als auch auf einer falschen Klassifikation der Monozyten mit größerer Kernplasmarelation und nicht so plumpen Kerneinfaltungen als Sézary-Zellen beruhen.

Myrie et al. (126) erzielten mit 0,89 für die SC einen besseren Korrelationskoeffizienten zwischen Semi- und Ultradünnschnitt. Ein Grund dafür könnte die Elimination der Monozyten im Rahmen der Zellpräparation darstellen.

5.5.3 Die Ultradünnschnittuntersuchung ohne Morphometrie

Hauptsächlich um die Gültigkeit der Einteilungskriterien im Semidünnschnitt für die NL, ÜL und SC zu überprüfen (siehe Kap. 4.8.4), wurden die Ergebnisse mit und ohne Morphometrie im Ultradünnschnitt miteinander verglichen. Dabei ergaben sich sehr hohe Korrelationskoeffizienten (für die NL 0,995, für die ÜL und SC 0,96), die eine starke Korrelation anzeigen. Bei einem Vergleich der identischen Fälle zwischen morphometrischer Elektronenmikroskopie und Semidünnschnittuntersuchung ergab sich für die NL und die SC ein Korrelationskoeffizient von 0,88 und für die ÜL einer von 0,89. Aus diesen Ergebnissen folgt, daß die wichtigere Verbesserung beim Übergang vom Semidünnschnitt zum Ultradünnschnitt mit Morphometrie nicht durch die Anwendung des NCI, sondern durch die ultrastrukturelle Analyse erfolgt. Der Vorteil des NCI kann durch gute Einteilungskriterien also fast ausgeglichen werden.

5.5.4 Zusammenfassung

Mit Myrie et al. (126) stimmen wir überein, daß die Blutaussstrichuntersuchung sich nicht für die Suche nach zirkulierenden SC eignet.

Dagegen liefert die Semidünnschnittuntersuchung gute Ergebnisse. Allerdings lassen sich erwartungsgemäß elektronenmikroskopisch noch mehr zirkulierende SC entdecken.

Die Anwendung der Morphometrie erlaubt eine sehr hohe Reproduzierbarkeit der Einteilung der lymphoiden Zellen nach der Tiefe und Zahl ihrer Kerneinbuchtungen.

5.6 Das Vorkommen der Sézary-Zellen im Ultradünnschnitt bei den einzelnen untersuchten Krankheitsgruppen

5.6.1 Sézary-Syndrom

Ein erhöhter Anteil von SC unter den lymphoiden Blutzellen ist neben der Erythrodermie und der peripheren Lymphadenopathie das dominierende Kriterium bei der Diagnose des SS. Die Werte der zirkulierenden SC, die bisher in der Literatur mitgeteilt wurden, sind in Tabelle V enthalten. Da -wie in Kap. 5.5.1 ausgeführt - die Blutaussstrichuntersuchung nur eine geringe Validität besitzt, werden nur die Ergebnisse, die auf einer Semidünnschnitt- oder Ultradünnschnittanalyse beruhen, näher betrachtet.

Nach wie vor ist unklar, wieviele zirkulierende SC bereits für die Diagnose eines SS ausreichen. Der relative Anteil der SC an den lymphoiden Zellen beträgt in der Literatur zwischen 2-72% (201), 41-69% (108), 78-90% (16) und 9-95% (126). Alle Prozentsätze wurden ultrastrukturell ermittelt, Litovitz und Lutzner (108) wandten zusätzlich die Morphometrie an (siehe Tabelle V). Dabei befand sich der Fall mit der niedrigsten Zahl der zirkulierenden SC überhaupt bei Zucker-Franklin (201) in einer Remission und die restlichen wiesen bereits 26-72% SC unter den lymphoiden Blutzellen auf. Litovitz und Lutzner (108) charakterisierten die Kernkontou-

ren der lymphoiden Zellen bei 12 SS vor allem durch die Angabe des Mittelwertes und der Standardabweichung der NCI-Verteilung. Sie ermittelten eine Spannweite zwischen 5,2 - 8,7, während wir bei unseren 12 Blutproben der SS Werte zwischen 5,0 - 7,1 erreichen konnten. Dies bedeutet, daß einige von Litovitz und Lutzner (108) analysierten SS mehr zirkulierende SC mit hohem NCI besaßen als die hier untersuchten SS.

Die absoluten SC-Zahlen schwanken ohne das SS in Remission (60 SC/ μ l) von Zucker-Franklin (201) in der Literatur zwischen 5.300 SC/ μ l - 118.000 SC/ μ l (nur bei Zucker-Franklin (201) und Braylan et al. (16) angegeben).

Wir beobachteten in dieser Studie bei den SS 12,1 - 57,8 % SC unter den lymphoiden Blutzellen und 500 - 3.900 SC/ μ l, also deutlich niedrigere Werte als in der Literatur angegeben. Da auch die Lymphozyten und Leukozyten im Vergleich mit bisher publizierten SS hier niedriger lagen (siehe Kap. 5.2), handelt es sich unter Umständen um Frühformen, bei denen sowohl die SC als auch die Lymphozyten und Leukozyten noch nicht exzessiv vermehrt waren. Allerdings befanden sich zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung drei Patienten im Stadium IVa. Einen Zusammenhang zwischen Stadieneinteilung bzw. Prognose ist bei unseren Fällen nicht sicher zu erkennen:

Obwohl sich BM zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung noch als einziges SS im Stadium IIId befand und dieses bis jetzt vier Jahre überlebte, weist sie doch jeweils die dritthöchste Zahl zirkulierender SC unter den lymphoiden Zellen und pro μ l Blut auf. Myrie et al (126) beobachteten sogar SS- und MF-Patienten, die mit über 75% zirkulierenden SC noch fünf Jahre lang überlebten.

Duncan und Winkelmann (47) sowie Büchner und Winkelmann (22) forderten aufgrund von Blutausstrichuntersuchungen, daß mehr als 1.000 SC/ μ l für die Diagnose eines SS nötig sind. Andere Autoren verlangten für diese Diagnose beim Vorliegen einer Erythrodermie mehr als 10% SC im Blutausstrich (67, 133).

Mit beiden Kriterien könnten nicht alle SS dieser Studie richtig diagnostiziert werden: zum Beispiel erreichen nur 5 von 8 SS mehr als 1.000 SC/ μ l und nur 7 von 12 Blutproben mehr als 10% SC unter den weißen Blutzellen (abzulesen aus den Tabellen XII, XXII und XXIII).

Das Blut zweier SS wurde jeweils im Abstand von drei Monaten zweimal (LK) bzw. viermal (FG) auf SC untersucht. Dabei ergaben sich bei LK außer beim höchsten NCI (NCI_{max}) der Probe keine wesentlichen Veränderungen (siehe Kap. 4.7.2). Das Krankheitsstadium, die Symptome und das therapeutische Procedere änderten sich im Zeitraum zwischen diesen Untersuchungen ebenfalls nicht. Der höhere Wert für den NCI_{max} bei LKI ist sehr wahrscheinlich auf die dabei analysierte hohe Zellzahl (700) zurückzuführen.

Bei FG ließ sich bei den SC, dem Mittelwert und der P_{25} bzw. P_{70} der NCI-Verteilung ein ähnliches und bei den NL ein zu den SC diskordantes Muster feststellen: etwa identisches Ergebnis in den ersten beiden Analysen, Anstieg in der dritten und Absinken unter das Ausgangsniveau in der vierten Untersuchung. Die SC mit dem höchsten NCI wurde ebenfalls bei der dritten Probe gefunden. Stabil blieb die Zahl der $\bar{U}$ L und wenig schwankten die SC/ μ l Blut (siehe Kap. 4.7.2). Bei allen vier Blutproben befand sich die Krankheit im Stadium IIId (siehe Tabelle X). Therapeutisch wurde bereits vor der dritten Analyse mit Chlorambucil ein aggressiveres Vorgehen eingeschlagen. Möglicherweise konnte das Zytostatikum den Anstieg der SC, der in der ersten bis dritten Blutprobe zu beobachten war, erst mit einer gewissen Latenz von etwa zwei Monaten aufhalten.

Heaphy und Winkelmann (72) berichteten von täglichen Schwankungen des Prozentsatzes der SC im Blutaussstrich zwischen drei und 14%. Abgesehen davon, daß diese Schwankungsbreite bei einem Mittelwert von 7% und 100 ausgewerteten Zellen innerhalb des 95%-Vertrauensintervalls, das sich zwischen drei und 14 % befindet, liegt (also bei 100 Auswertungen eines Ausstrichs, 95 in diesem Bereich enthalten sind), ist

die Angabe des Prozentsatzes der SC unter den Leukozyten sehr problematisch (194). Falls sich nämlich die Zahl der Leukozyten z.B. durch einen Infekt erhöht, nimmt der Prozentsatz der SC an den Leukozyten ab, obwohl die absoluten SC/ μ l unverändert bleiben.

Weniger störanfällig ist die Angabe der absoluten Zahl der SC/ μ l (22, 194) und die des Anteils der SC an den lymphoiden Blutzellen. Allerdings muß zur Berechnung der SC/ μ l die Leukozytenzahl und der Anteil der lymphoiden Zellen im Blutaussstrich bekannt sein.

Eine Dissoziation zwischen Haut- und Blutbefund war bei JS festzustellen. Obwohl 35 % der lymphoiden Hautinfiltratzellen (92) blastomatösen Charakter besaßen, konnten diese unter den lymphoiden Blutzellen nicht nachgewiesen werden.

Zusammenfassung:

Die Zahl der Sézary-Zellen lag wie die der Leuko- und Lymphozyten bei den hier untersuchten SS an der unteren Grenze der bisher mitgeteilten Spannweite. Möglicherweise handelt es sich in dieser Studie um sehr früh diagnostizierte SS. Einen Zusammenhang zwischen der Stadieneinteilung und der Höhe der zirkulierenden SC konnte nicht beobachtet werden.

Nur etwa zwei Drittel unserer SS erfüllen die bisher mitgeteilten Kriterien, die für die Zahl der zirkulierenden SC beim SS gefordert wurden.

Schwankungen der zirkulierenden SC bei den gleichen Patienten konnten durch das therapeutische Eingreifen und das 95%-Vertrauensintervall erklärt werden.

Am genauesten wird der Anteil der zirkulierenden SC in SC/ μ l Blut oder in SC/lymphoide Blutzellen angegeben.

5.6.2 Pre-Sézary-Syndrom

Drei Patienten (WS, KB und HS) konnten aufgrund der klinischen Befunde nicht sicher als SS diagnostiziert werden und wurden

daher als Pre-SS im Sinne Winkelmanns et al. (22, 191, 192) bezeichnet. Von den drei typischen klinischen Symptomen des SS (Erythrodermie, Lymphadenopathie und Pruritus) war bei KB lediglich Pruritus nicht nachweisbar.

Aufgrund der ultrastrukturellen Befunde (Zahl der NL, ÜL und SC, Mittelwert, P_{25} , P_{70} der NCI-Verteilung sowie SC/ μ l) läßt sich KBII eindeutig den SS zuordnen (siehe auch Abb. 18 und 19 sowie Tab. XXII und XXIII), während KBI und HS keine der unteren ultrastrukturellen Grenzen der SS (siehe Tab. XXII und XXIII) erreichen. Bei KB konnte also ein Übergang eines Pre-SS in ein SS beobachtet werden, der sich in einem Blutbefund bei KBI dokumentierte, der auch bei gutartigen Hauterkrankungen zu erheben ist, und Werten bei KBII, die nur abgesehen von der MF bei den SS zu ermitteln sind (siehe Tab. XXII und XXIII).

Die Histogramme von KBI und KBII, die diesen Übergang auch graphisch vermitteln, sind in den Abb. 17i und j dargestellt. Problematisch ist die Einordnung von WL. Bei WL übertreffen die Prozentsätze der NL, ÜL und SC sowie der Mittelwert und die P_{25} bzw. P_{70} der NCI-Verteilung die Werte einiger SS. Allerdings beträgt wegen des geringen Lymphozytenanteils im Blutaussstrich die absolute SC-Zahl nur 90 SC/ μ l. Flandrin und Brouet (57) sowie Hamminga et al. (70) beobachteten jedoch ebenfalls SS mit einer Lymphopenie, so daß wohl auch WL als SS einzuordnen ist. Ein weiteres Indiz für eine partielle Untauglichkeit der SC/ μ l als Differenzierungskriterium liefert das angioimmunoblastische Lymphom. Obwohl kein SS, übertrifft es die SC/ μ l einiger SS (GH, GK, FGI-IV).

Zusammenfassung

Bei einem Pre-SS (KB) konnte innerhalb von fünf Monaten ein Übergang in ein SS beobachtet werden. Aufgrund der hohen Anteile von SC und ÜL an den lymphoiden Blutzellen muß auch WS als SS angesehen werden.

5.6.3 Mycosis fungoides

Bei der MF liegen bereits mehrere Untersuchungen über die Zahl der zirkulierenden SC unter den lymphoiden Zellen vor (siehe Tab. V): auf rein ultrastruktureller Basis wurden bei 56 Patienten zwischen 0-98% SC unter den lymphoiden Blutzellen mitgeteilt, die SC/ μ l schwankten bei 8 Patienten zwischen 0-650 (126, 201, 203). Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie und des NCI untersuchten van der Loo et al. (177) 20 MF-Fälle. Die zirkulierenden SC variierten zwischen 2-45% SC unter den lymphoiden Zellen und 12 - 1.200 SC/ μ l, wobei bei 9 von 11 Fällen mit Lymphknotenbeteiligung mehr als 20% SC unter den lymphoiden Zellen gefunden wurden.

In dieser Studie bewegten sich bei der MF die SC zwischen 0,8- 28,5% SC unter den lymphoiden Zellen und 10 - 1.200 SC/ μ l. Damit besteht in allen ultrastrukturellen Untersuchungen Übereinstimmung darin, daß zwar die zirkulierenden SC bei der MF in weiten Bereichen variieren, aber doch fast immer - wenn auch in geringer Zahl - nachweisbar sind.

Obwohl van der Loo et al. (177) bei mehr als 20% SC unter den lymphoiden Blutzellen eine schlechtere Prognose ermittelten, braucht dies nicht immer der Fall zu sein.

Myrie et al. (126) beobachteten drei MF bzw. SS- Patienten mit mehr als 75% SC unter den lymphoiden Zellen, die die Blutuntersuchung mehr als fünf Jahre überlebten, und zwei Erkrankte im fortgeschrittenen Tumorstadium mit viszeraler Beteiligung, das zum Tode führte, mit weniger als 10% SC unter den lymphoiden Blutzellen.

Eine klinische Ausbreitung oder Remission der MF, wie sie aufgrund des Grads der Hautbeteiligung festgestellt werden konnte, war nicht notwendigerweise von einem Anstieg oder Abfall der zirkulierenden SC begleitet (126). Auch wir beobachteten bei einem fortgeschrittenen Tumorstadium (AG) sehr wenige zirkulierende SC. Bei FU ging die Erhöhung der

zirkulierenden SC wahrscheinlich dem Stadienwechsel von Ib nach IIIb um einige Zeit voraus. Die übrigen Patienten im Stadium I und II besaßen weniger als 10% SC unter den lymphoiden Blutzellen.

Von unseren Fällen erfüllte einer die für ein SS geforderten ultrastrukturellen Bedingungen (siehe Kap. 4.7.4) von mehr als 9% SC, 20% ÜL und 37% SC und ÜL. Van der Loo et al (177) gaben nur den Prozentsatz der lymphoiden Zellen mit einem $NCI > 6,5$ und die Zahl der Lymphozyten/ μ l an. Dabei wiesen nur drei von 18 MF-Patienten mehr als 500 SC/ μ l auf, die alle unsere 12 Blutproben der SS erreichen. Auch bei Zucker-Franklin (201) werden 500 SC/ μ l nur bei 4 von 8 Fällen übertroffen.

Im Blutaussstrich fanden einige Autoren nur bei weniger als 10% der an MF Erkrankten zirkulierende SC (16, 144, 193). Verglichen mit den oben angeführten ultrastrukturellen Befunden dürfte dies ein weiterer Hinweis für die geringe Validität dieser Untersuchungsmethode sein.

Bei FP konnte neben einer Blutprobe auch eine Haut- und Lymphknotenbiopsie elektronenmikroskopisch untersucht werden (siehe Kap. 4.7.3). Dabei unterschied sich die NCI-Verteilung der gleichzeitig vorgenommenen Blut- und Lymphknotenanalyse nur geringfügig. Allerdings sind unter den zirkulierenden lymphoiden Zellen viel weniger Blasten zu erkennen als im Lymphknoten oder sogar im Hautinfiltrat. Möglicherweise ist dies bei JS ein Hinweis darauf, daß die blastomatösen Zellen erst in dem Haut- oder Lymphknoteninfiltrat in größerer Zahl auftreten.

Zusammenfassung:

Diese Studie bestätigt die bisher mitgeteilte Tatsache, daß bei fast jeder MF ultrastrukturell zirkulierende SC nachzuweisen sind. Die SC-Werte variieren allerdings sehr stark und höhere bzw. niedrigere Zahlen bedingen nicht immer eine schlechtere bzw. bessere Prognose. Der Anteil der SC lag bei bisher unter-

suchten 33 MF- Patienten nur bei 9 (= 33%) über 500 SC/ μ l Blut, die in dieser Studie alle 12 Blutproben der SS übertrafen. Die Blutausstrichuntersuchung auf SC besitzt auch bei an MF Erkrankten gegenüber der Ultradünnschnittanalyse eine zu geringe Validität.

5.6.4 Benigne Hauterkrankungen

Bei der Differentialdiagnose zwischen dem SS und einer Erythrodermie bei gutartigen Hauterkrankungen spielt neben den histologischen Befunden die Zahl der zirkulierenden SC eine bedeutsame Rolle.

Bisher wurden - wie Tab. V zeigt - nur bei einigen benignen Erkrankungen die zirkulierenden SC mit Hilfe der Ultra- und Semidünnschnittanalyse ermittelt. Van der Loo et al. (177) fanden morphometrisch elektronenmikroskopisch bei einer atopischen Dermatitis und zwei Psoriasis, die alle ein erythrodermisches Bild aufwiesen, 10 - 16% SC unter den lymphoiden Zellen und 90 - 225 SC/ μ l. Bei einem aktinischen Retikuloid stellten Johnson et al. (86) 30% SC unter den lymphoiden Blutzellen und 860 SC/ μ l im Semidünnschnitt fest. Letzteres Ergebnis liegt deutlich über dem einiger der hier untersuchten SS. Allerdings stellt das aktinische Retikuloid einen Sonderfall einer gutartigen Hauterkrankung dar, da, obwohl das Hautinfiltrat dem einer MF sehr ähnelt und wie der Blutbefund anzeigt auch dieser einen malignen Aspekt aufweisen kann, der Verlauf eher gutartig zu sein scheint (86).

In dieser Studie wurden für die gutartigen erythrodermatischen Hauterkrankungen 1,7 - 13,4% SC unter den lymphoiden Blutzellen und 50 - 300 SC/ μ l gefunden; Werte, die mit denen von van der Loo et al. (177) gut übereinstimmen. Bei zwei Parapsoriasis en plaques wurden ebenfalls zirkulierende SC nachgewiesen (siehe Tab. XXII und XXIII). Ob der relativ hohe Wert von 11,5% SC unter den lymphoiden Blutzellen und 300 SC/ μ l bei FB ein Indiz für einen Übergang in eine maligne Hämoblastose ist, den

Heid et al. (73) und Bonvalet et al. (11) bei einigen Parapsoriasis en plaques beobachteten, kann erst durch eine längere Verlaufskontrolle festgestellt werden.

Zusammenfassung:

Der in dieser Studie gefundene Anteil der SC an den lymphoiden Blutzellen bei gutartigen Hauterkrankungen läßt sich gut mit den bisher publizierten Ergebnissen vereinbaren.

5.6.5 Angioimmunoblastisches Lymphom

Nach unseren Erkenntnissen wurden bisher in der Literatur noch bei keinem angioimmunoblastischen Lymphom zirkulierende SC nachgewiesen. Das hier analysierte Blut eines angioimmunoblastischen Lymphoms enthielt mit 3,2% SC unter den lymphoiden Blutzellen einen deutlich geringeren relativen SC-Anteil als die SS, jedoch aufgrund der Lymphozytenzahl von 30.000/ μ l errechneten sich 1.000 SC/ μ l, deutlich mehr als bei einigen SS.

Das klinische Bild des angioimmunoblastischen Lymphoms wird charakterisiert durch schwere Störungen des Allgemeinbefindens, die meist plötzlich aus vollem Wohlbefinden auftreten: Leistungsschwäche, Fieber, Pruritus, Gewichtsverlust, mehr oder weniger generalisierte Lymphknotenschwellungen mit Hepato- oder Splenomegalie und einem Exanthem (in unserem Fall bestand es generalisiert) (zitiert nach Begemann (7)).

Aufgrund seiner Prognose nimmt es eine Mittelstellung zwischen benigne und maligne ein: obwohl bereits nach einem Jahr 25% der Kranken gestorben sind, lebt andererseits ein großer Teil noch nach 5 und sogar nach 10 Jahren, gelegentlich mit der Entwicklung von Spontanremissionen (7). Nach Begemann (7) ist seine nosologische Stellung umstritten: wahrscheinlich gehört die Erkrankung gar nicht in den Formenkreis der malignen Lymphome. Möglicherweise liegt der Störung eine hyperimmunisatorische Reaktion durch unterschiedliche exogene Noxen zugrunde.

Trotz der unsicheren Nosologie des angioimmunoblastischen Lymphoms läßt sich doch erkennen, daß bei der Verwendung der absoluten SC-Zahl als Differenzierungskriterium zwischen SS und anderen Erythrodermien falsche Diagnosen entstehen können, die durch die Anwendung der Prozentsätze der ÜL, SC und der Summe aus ÜL und SC als Unterscheidungsmerkmale zu vermeiden sind.

Zusammenfassung:

Die Untersuchung des angioimmunoblastischen Lymphoms belegt, daß die Zahl der zirkulierenden Sézary-Zellen am verlässlichsten durch ihren Anteil an den lymphoiden Blutzellen anzugeben ist.

5.6.6 Gesunde Normalpersonen

Mehrere Autoren untersuchten bereits im Semidünnschnitt und mit der Elektronenmikroskopie Blut gesunder Normalpersonen auf zirkulierende SC (108, 122, 176, 177).

Dabei wurden Werte zwischen 2 - 13,3% SC unter den lymphoiden Blutzellen ermittelt.

Da den Analysen, die mit Hilfe der Morphometrie durchgeführt wurden, die höchste Validität zuzutragen ist, dürften die meisten Gesunden unter den lymphoiden Blutzellen zwischen 2 und 8% SC besitzen (108, 177).

Dieses Resultat steht mit unseren Werten (0,8 - 1,2% SC unter den lymphoiden Blutzellen) im Einklang, zumal das 95%-Vertrauensintervall bei einem Erwartungswert von 2% und 100 gemessenen Zellen 0 - 7% beträgt.

Die Kernkontouren der lymphoiden Zellen Gesunder charakterisierten einige Autoren auch durch die Angabe der Mittelwerte der NCI-Verteilungen: im einzelnen errechneten sie (Zahl der untersuchten Normalpersonen in den ersten Klammern): 4,0 - 4,4

(8) (153), 4,2 - 4,7 (5) (108) und 4,4 - 4,6 (5) (122). Unser Resultat, das zwischen 4,0 - 4,2 liegt (siehe Tab. XXIII), läßt sich damit gut vereinbaren.

Die morphometrischen ultrastrukturellen Ergebnisse beweisen, daß bei fast jeder analysierten gesunden Normalperson zirkulierende SC - wenn auch in geringer Zahl - nachzuweisen sind. Deshalb messen Myrie et al. (126) einem SC- Anteil unter 5% an den lymphoiden Blutzellen keine Bedeutung zu. Wie in Kap. 5.6.4 erwähnt, lassen sich aber auch noch höhere Werte bei benignen Erkrankungen finden.

Da im Blutausstrich bei Gesunden, bei gutartigen Hauterkrankungen oder bei an MF Erkrankten von vielen Untersuchern (16, 47, 125, 131, 144, 184, 193) keine SC gefunden wurden, spricht dies ebenfalls für die zu geringe Validität dieser Untersuchungsmethode.

Das für die Stadieneinteilung bei Hautlymphomen geschaffene TNMB-System (52, 123) sieht das Stadium B₁ vor, falls mehr als 5% atypische Blutzellen nachzuweisen sind. Für das SS und die MF muß diese Vorschrift modifiziert werden, da - wie oben angeführt - auch bei benignen Hauterkrankungen sich mehr zirkulierende SC feststellen lassen. Beim SS und bei der MF ist eine Unterteilung zwischen B₀ und B₁ nur dann sinnvoll, falls sich dadurch Fälle unterschiedlicher Prognose differenzieren lassen; nur van der Loo et al (177) ermittelten bei über 20% SC unter den lymphoiden Blutzellen bei der MF eine schlechtere Prognose.

Zusammenfassung:

In Übereinstimmung mit anderen Autoren konnten auch wir bei jeder gesunden Normalperson zirkulierende SC morphometrisch elektronenmikroskopisch nachweisen. Die Blutausstrichuntersuchung besitzt dafür eine zu geringe Validität.

Bei Systemen zur Stadieneinteilung der Hautlymphome muß berücksichtigt werden, daß zirkulierende SC auch bei Gesunden vorkommen können.

5.7 Differenzierungskriterien aufgrund der lymphoiden Blutzellen zwischen dem Sézary-Syndrom und gutartigen Hauterkrankungen im Ultradünnschnitt

Klinisch relevant wird eine Differenzierung zwischen den SS und gutartigen Hauterkrankungen aufgrund der lymphoiden Blutzellen vor allem bei Erythrodermien benigner Natur. Für eine Unterscheidung bieten sich mehrere Parameter an, die den Charakter der lymphoiden Blutzellen näher beschreiben können und nachfolgend diskutiert werden.

Bemerkenswerterweise läßt sich eine Differenzierung zwischen der MF und gutartigen Hauterkrankungen aufgrund der Kernkontouren der lymphoiden Blutzellen mit keinen Kriterien ermöglichen; diese wurde jedoch aufgrund der Infiltratzellen in Haut- und Lymphknotenbiopsien bereits erfolgreich durchgeführt (siehe Kap. 2.5) (121, 123, 145, 178).

5.7.1 Der Prozentsatz der normalen Lymphozyten (NL), Übergangslymphozyten (ÜL) und Sézary-Zellen (SC)

Jede hier analysierte benigne Hauterkrankung einschließlich des angioimmunoblastischen Lymphoms läßt sich von den 12 Blutproben der SS durch folgende drei Kriterien, die alle erfüllt sein müssen, unterscheiden:

- a) Sézary-Zellen > 9%
- b) Übergangslymphozyten > 20%
- c) Summe der Sézary-Zellen und Übergangslymphozyten > 37%.

Dabei beziehen sich die Prozentzahlen auf den Anteil an den lymphoiden Blutzellen.

Bisher wurde in der Literatur (siehe Tab. V - näher betrachtet werden nur Semi- und Ultradünnschnittuntersuchungen) nur von zwei SS berichtet, die weniger (201) oder gleich (126) viel zirkulierende SC als 9% aufwiesen. Myrie et al. (126) benützten jedoch genau wie Zucker-Franklin (201) nicht die Morphometrie. Zudem befand sich das von Zucker-Franklin (201) be-

obachtete SS nach intensiver Zytostatikatherapie in einer Remission.

Mehr als 9% SC unter den lymphoiden Blutzellen bei einer sicher gutartigen Hauterkrankung wurden bisher bei drei Fällen mitgeteilt (177); der höchste SC-Wert betrug dabei 16%. Allerdings stellten auch wir bei zwei Patienten mit gutartigen Hauterkrankungen mehr als 9% SC fest, ohne daß dabei alle drei Bedingungen für das Vorliegen eines SS erfüllt wurden. Die Zahl der ÜL gaben van der Loo et al.(177) nicht an.

Der Vorteil einer Differenzierung aufgrund der ÜL und SC liegt vor allem darin, daß sie auch mit gutem Erfolg im Ultradünnschnitt ohne Morphometrie (siehe Kap. 4.8.4) und im Semidünnschnitt (siehe Kap. 4.8.3) angewandt werden kann.

5.7.2 Die Zahl der Sézary-Zellen pro μ l Blut

Die Zahl der SC/ μ l läßt sich ebenso als Differenzierungskriterium einsetzen. Allerdings müssen dazu neben dem Prozentsatz der SC unter den lymphoiden Zellen auch gleichzeitig die Leukozyten und der Anteil der Lymphozyten im Blutaussstrich bestimmt werden.

Alle SS in dieser Studie erreichen 500 SC/ μ l, die von keiner gutartigen Erkrankung übertroffen werden. Allerdings läßt sich damit das angioimmunoblastische Lymphom mit 1.000 SC/ μ l nicht von den SS abgrenzen.

In der Literatur wurde außer dem schon in Kap. 5.7.1 erwähnten SS von Zucker-Franklin (201) (siehe Tab. V - näher betrachtet werden nur Semi- und Ultradünnschnittuntersuchungen) kein SS mit weniger als 500 SC/ μ l und keine sicher gutartige Hauterkrankung mit mehr als 500 SC/ μ l mitgeteilt.

Aus den in Kap. 5.6.1 geschilderten Gründen ist die Angabe der zirkulierenden SC in SC/ μ l der in SC unter den weißen Blutzellen vorzuziehen. In dieser Studie ergab sich gegenüber der Einteilung der lymphoiden Zellen in SC, ÜL und NL kein entscheidender Vorteil, eher sogar ein Nachteil, da durch die SC/ μ l das angioimmunoblastische Lymphom nicht von

den SS abgegrenzt werden konnte. Ebenso wie der Prozentsatz der SC, ÜL und NL lassen sich die SC/ul auch aufgrund einer Semidünnschnittanalyse bereits ermitteln.

5.7.3 Die 25. und 70. Perzentilen der NCI- Verteilung

Van der Loo et al. (177) und Meijer et al. (123) benützten die 25. und 70. Perzentilen der NCI- Verteilung, um Hautbiopsien benigner Hauterkrankungen von denen der MF und des SS zu unterscheiden. Bei gutartigen Hauterkrankungen fanden sie P_{25} bzw. P_{70} zwischen 3,7 - 4,3 bzw. 4,1 - 5,8 und bei malignen P_{25} bzw. P_{70} zwischen 3,9 - 6,3 bzw. 6,0 - 9,5. Bei den lymphoiden Blutzellen scheinen die Kerneinbuchtungen weniger stark ausgeprägt zu sein, denn wir fanden bei den benignen Hauterkrankungen P_{25} bzw. P_{70} zwischen 3,7 - 4,1 bzw. 4,2 - 5,2 und bei den SS 3,9 - 5,4 bzw. 5,5 - 8,2. Alle gutartigen Hauterkrankungen, aber nicht das angioimmunoblastische Lymphom, besitzen in dieser Studie eine kleinere Summe der P_{25} und P_{70} als 9,45, die alle 12 Blutproben der SS erreichen. Neben der fehlenden Abgrenzbarkeit des angioimmunoblastischen Lymphoms besteht ein weiterer Nachteil der 25. und 70. Perzentilen der NCI-Verteilung darin, daß sie nur durch morphometrische Methoden zu bestimmen sind.

5.7.4 Der Mittelwert der NCI-Verteilung

Zur Unterscheidung zwischen einer dermatopathischen Lymphadenitis und eines spezifisch mit MF oder SS befallenen Lymphknotens verwandten van der Loo et al. (175) den Mittelwert und die Standardabweichung der NCI-Verteilung. Dabei fanden sie bei der dermatopathischen Lymphadenitis Mittelwerte zwischen 4,2 - 4,9 und bei spezifisch infiltrierten Lymphknoten zwischen 5,7 - 7,5. In dieser Studie erreichten alle 12 Blutproben der SS einen Mittelwert zwischen 5,0 - 7,1 und die benignen Hauterkrankungen einschließlich des angioimmunoblastischen Lymphoms einen zwischen 4,1 - 4,9. Ein Mittelwert der NCI- Ver-

teilung größer als 4,9 kann also als Beweis für ein SS angesehen werden.

Allerdings lassen sich der Mittelwert ebenso wie die 25. bzw. 70. Perzentile nur mit Hilfe des NCI berechnen, können also im Semidünnschnitt nicht bestimmt werden.

5.7.5 Der größte NCI-Wert (NCI_{max}) unter den lymphoiden Blutzellen eines Patienten

Einen $NCI \geq 11,5$ beobachteten van der Loo et al. (177) nur im Blut von MF- oder SS-Patienten, nicht jedoch bei gutartigen Hauterkrankungen. Auch Guccion et al. (66) fanden bei gutartigen Hauterkrankungen keine sehr stark eingebuchteten SC im Blut. In Hautbiopsien von sicher Nicht-CTCL wurden bereits mehrmals NCI_{max} über 11,5 festgestellt (59, 121). Dabei ließ sich bei einem Lupus erythematoses im Hautinfiltrat eine SC mit einem NCI von 13,0 nachweisen (121).

Wir konnten sogar im Blut bei drei von 10 benignen Hauterkrankungen einen $NCI \geq 11,5$ ermitteln, nicht jedoch bei 5 von 12 Blutproben der SS. Dabei wurde der höchste NCI bei den benignen Hauterkrankungen von 13,0 (siehe Tab. XXIII) von keinem SS übertroffen.

Aufgrund des NCI_{max} lassen sich die gutartigen Hauterkrankungen also nicht von den SS differenzieren.

Auch ist der NCI_{max} sehr stark von der Zahl der untersuchten Zellen abhängig. Dies wird ganz deutlich bei LKI und LKII: obwohl die Werte für die NL, ÜL und SC in beiden Blutproben annähernd identisch sind, unterscheiden sich beide deutlich im NCI_{max} , der bei LKI 12,0 und bei LKII 9,4 beträgt. Diese Differenz ist wohl auf die unterschiedliche analysierte Zellzahl von 700 bei LKI und 121 bei LKII (siehe Tab. XXIII) zurückzuführen, obwohl durch das völlige Durchmustern jedes Ultradünnschnittes immer wieder versucht wurde, diesen Störfaktor auszugleichen.

5.7.6 Zusammenfassung

Als Differenzierungskriterien zwischen gutartigen Hauterkrankungen und SS eignen sich die Prozentsätze der zirkulierenden SC und ÜL, die SC/ul Blut, die 25. und 70. Perzentilen sowie der Mittelwert der NCI-Verteilung. Der größte NCI-Wert unter den lymphoiden Blutzellen kann dafür nicht herangezogen werden.

Das angioimmunoblastische Lymphom läßt sich von den SS nur durch die Zahl der zirkulierenden SC und ÜL sowie den Mittelwert der NCI-Verteilung abgrenzen.

Da die Höhe der zirkulierenden SC und ÜL leichter und auch im Semidünnschnitt bestimmt werden kann, wird sie als Differenzierungskriterium empfohlen. Bisher wurde noch von keiner gutartigen Hauterkrankung berichtet, die alle drei folgenden Kriterien für das Vorliegen eines Sézary-Syndroms erfüllt:

- 1) Sézary-Zellen > 9%
- 2) Übergangslimphozyten > 20%
- 3) Summe von Sézary-Zellen und Übergangslimphozyten > 37%.

Dabei beziehen sich die Prozentzahlen auf den Anteil an den lymphoiden Blutzellen.

5.8 Die Leistungsfähigkeit der Semidünnschnittuntersuchung bei der Abgrenzung gutartiger Hauterkrankungen von den Sézary-Syndromen

Die morphometrische elektronenmikroskopische Untersuchung ist eine sehr aufwendige. Da sich bereits früher die Semidünnschnittuntersuchung als eine nützliche diagnostische Methode bei Hautläsionen CTCL (150) und bei lymphoiden Blutzellen (126) erwies, ist zu diskutieren, ob die höhere Genauigkeit der morphometrischen Elektronenmikroskopie in einem vertretbaren Verhältnis zum dafür notwendigen Aufwand steht oder die Semidünnschnittanalyse annähernd das Gleiche leistet ?

Für eine Anwendung im Semidünnschnitt eignen sich von den in Kap. 5.7 behandelten Kriterien nur zwei: die Einteilung der lymphoiden Blutzellen in NL, ÜL und SC sowie die Angabe der SC/ÜL Blut. Da erstere der zweiten in der Elektronenmikroskopie - wie in Kap. 5.7.2 dargestellt - leicht überlegen zu sein scheint, wird sie auch im Semidünnschnitt als Differenzierungsmerkmal eingesetzt.

Mit den folgenden Kriterien konnten in dieser Studie alle gutartigen Hauterkrankungen einschließlich des angioimmunoblastischen Lymphoms von den SS im Semidünnschnitt abgegrenzt werden: für das Vorliegen eines SS wird die Erfüllung jeder der drei folgenden Bedingungen gefordert:

- a) Sézary-Zellen > 7%
- b) Übergangslymphozyten > 20%
- c) Sézary-Zellen und Übergangslymphozyten > 32%.

Dabei beziehen sich die Prozentzahlen auf den Anteil an den lymphoiden Blutzellen.

Diese diagnostischen Kriterien sind für die SC sowie für die Summe der SC und ÜL niedriger als die elektronenmikroskopischen. Dies kommt dadurch zustande, daß im Semidünnschnitt öfter geringere SC-Zahlen als im Ultradünnschnitt beobachtet wurden (über mögliche Ursachen siehe Kap. 5.5.2).

Fraglich ist nun, ob für zukünftige Untersuchungen die Semidünnschnittbedingungen den elektronenmikroskopischen angepaßt werden sollen?

Falls dies nicht geschieht, besteht die Möglichkeit, daß im Semidünnschnitt z.B. 8% SC und 21% ÜL ermittelt werden - die Voraussetzungen für das Vorliegen eines SS also erfüllt sind -, die nachfolgende elektronenmikroskopische Analyse jedoch keine höheren, sondern die gleichen oder sogar niedrigere Prozentsätze ergibt, folglich die Kriterien für ein SS dort nicht gegeben sind. Diese Konstellation (niedrigere oder gleiche Werte im Ultradünnschnitt als im Semidünnschnitt) trat in dieser Studie bei 8 von 37 SC- und 12 von 37 ÜL-Werten ein, ohne allerdings zu Fehldiagnosen im Semidünnschnitt zu führen.

Bedeutung hätten niedrigere Schranken für das Vorliegen eines SS im Semidünnschnitt vor allem für Grenzfälle, deren SC- Werte etwa zwischen 7 - 12% liegen, da dann eine ultrastrukturelle Verminderung von z.B. 3,2% (diese war die höchste, die in dieser Studie festgestellt wurde) zu falsch positiven Ergebnissen der Semidünnschnittuntersuchung im Vergleich zur Elektronenmikroskopie führen würde.

Falls die Semidünnschnittkriterien den ultrastrukturellen angepasst würden, stiege natürlich die Anzahl der falsch negativen Diagnosen im Semidünnschnitt an, da dann dort Fälle mit 8 - 9% SC und 33 - 37% SC und ÜL nicht als SS diagnostiziert werden, obwohl die elektronenmikroskopischen Kriterien durch einen Anstieg der SC bei der ultrastrukturellen Analyse noch übertroffen werden können. Da jedoch falsch positive Einordnungen wegen der sich daraus ergebenden Konsequenzen (eingreifende diagnostische Maßnahmen für die Stadieneinteilung und eine aggressivere Therapie mit mehr Nebenwirkungen) weniger akzeptabel sind als falsch negative, werden als diagnostische Kriterien des Semidünnschnittes auch die der Elektronenmikroskopie empfohlen.

Falsch negative Resultate bei der Semidünnschnittuntersuchung erscheinen auch, obwohl hier nicht bemerkt, bei zukünftigen Fällen deshalb möglich, da in dieser Studie bei zwei Patienten nur weniger als 25% der ultrastrukturell ermittelten SC im Semidünnschnitt nachweisbar waren. Falls dies sich bei einem SS ereignet hätte, wäre ein falsch negatives Ergebnis die Folge gewesen.

Können im Semidünnschnitt die ultrastrukturellen Kriterien erfüllt werden, wird eine Ultradünnschnittanalyse nicht mehr notwendig, da diese in der Regel die gleichen oder noch höhere Werte für die SC und ÜL ergibt. Da die Semidünnschnittuntersuchung nicht alle vorhandenen SC aufdeckt, kann die Diagnose eines SS mit Sicherheit nur ultrastrukturell ausgeschlossen werden und auch nur, wie das Beispiel KB zeigte, für den Zeitpunkt der Blutuntersuchung. Spätere Analysen können ohne weitere

res dann jedoch die Diagnose eines SS bestätigen.

Werden die ultrastrukturellen Kriterien auf das Semidünnschnittergebnis dieser Studie angewandt, können damit bereits 8 von 12 Blutproben als SS korrekt klassifiziert werden. Nur bei den restlichen vier wäre eine ultrastrukturelle Untersuchung notwendig gewesen. Die falsch positiv Rate dieses Procederes im Semidünnschnitt beträgt damit 0% und die falsch negativ Rate 33%, was eine Spezifität von 100% und eine Sensibilität von 67% bedeutet.

Zusammenfassung:

Um in zukünftigen Untersuchungen falsch positive Ergebnisse zu vermeiden, wurden die Kriterien für das Vorliegen eines SS im Semidünnschnitt den ultrastrukturellen angeglichen. Mit letzteren ließ sich eine Spezifität von 100% und eine Sensibilität von 67% in der Semidünnschnittanalyse erreichen.

Können im Semidünnschnitt die elektronenmikroskopischen Kriterien erfüllt werden, so erübrigt sich eine ultrastrukturelle Untersuchung, denn sehr wahrscheinlich erbrächte sie nur höhere Werte. Dagegen läßt sich nur ultrastrukturell und auch nur für den Zeitpunkt der Blutuntersuchung das Vorliegen eines SS ausschließen.

5.9 Die Größe der zu untersuchenden Zellzahl bei der Differenzierung zwischen benignen Hauterkrankungen und den Sézary-Syndromen

Bei der Frage der Größe der zu untersuchenden Zellzahl gilt es einen Wert zu finden, bei dem sowohl eine ausreichende Genauigkeit gegeben ist (siehe Kap. 4.4) als auch der Aufwand für die Analyse noch zu vertreten ist. Bei der Differentialblutbilderstellung werden gewöhnlich 100 Leukozyten ausgewertet (136). Da der Semidünnschnitt sehr schwierig zu beurteilen ist, zudem unter Umständen die Anteile der drei Zellarten in Teilen des buffy coats unterschiedlich sein können, sollten

hier auf drei Objektträgern je 100 lymphoide Zellen, insgesamt also 300, analysiert werden.

Die morphometrische elektronenmikroskopische Untersuchung zeichnet sich durch eine hohe Reproduzierbarkeit der NCI-Bestimmung aus, die sowohl bei Meijer et al. (123) als auch in dieser Studie über 90% lag; aufgrund dessen scheint es vertretbar, hier nur etwa 100 lymphoide Zellen auszuwerten, da der Vorteil der hohen Reproduzierbarkeit den Nachteil der im Vergleich zum Semidünnschnitt größeren 95%-Vertrauensintervalle wieder ausgleicht.

Van der Loo et al. (175, 177, 178) und Meijer et al. (123) analysierten bei jeder Probe mindestens 75 lymphoide Zellen.

Zusammenfassung:

Es wird die Analyse von mindestens 100 Zellen im Ultradünnschnitt und 300 Zellen im Semidünnschnitt empfohlen.

6. SCHLUSSFOLGERUNGEN AUS DEN ERGEBNISSEN DIESER STUDIE FÜR DIE BEDEUTUNG DER ZIRKULIERENDEN SÉZARY-ZELLEN

In dieser Arbeit konnte klar gezeigt werden, daß SC - wenn auch in geringer Zahl - bei Gesunden und in größerer Menge auch bei gutartigen Hauterkrankungen zirkulieren. Ein Unterschied zu den Blutbefunden der SS ergibt sich nur in der Quantität, nicht jedoch in der Qualität.

Demnach scheinen zirkulierende SC, physiologisch zu sein und, wie van der Loo et al. (176) zeigten, meistens Helferfunktion zu erfüllen.

Möglicherweise wird bei Kontaktdermatitiden oder bei atopischen Dermatitis, bei denen mitunter relativ viele SC zirkulieren, die physiologische Funktion der SC beansprucht. Der Nachweis zirkulierender SC bei Gesunden und gutartigen Hauterkrankungen in dieser Studie unterstützt die These Winkelmanns (189), der das SS als "transitional lymphoreticular proliferation" der Haut ansieht, bei der eine spontane Heilung, ein chronisch persistierender Verlauf oder der Übergang in ein malignes Lymphom beobachtet werden kann, nur insofern, als daß es SC-Proliferationen gutartiger Natur gibt.

Erreichen die SC und ÜL jedoch bestimmte Niveaus, kommen nicht mehr benigne und maligne Verläufe, sondern nur noch letztere vor. Von da an wird die Erkrankung per definitionem zu einem SS.

Welche Wege zu diesen hohen SC-Werten führen, ist unklar. Denkbar ist, daß durch Allergene, die zur Ausbildung einer Kontaktdermatitis führen, oder durch eine atopische Dermatitis die Proliferation der SC so stark angekurbelt wird, daß sich dabei Fehler bei den Steuerungsvorgängen einschleichen und diese dann zu neoplastischen SC führen.

Vielleicht transformieren sich manchmal die physiologischen SC auch bereits ohne vorherige verstärkte Proliferation.

Für erstere Theorie sprächen die Beobachtungen, daß sich aus einer Kontaktdermatitis oder atopischen Dermatitis ein SS entwickelte (189) und, daß bei CTCL vielfache Expositionen mit Karzinogenen und allergisierenden Substanzen nachgewiesen wurden (56). Rosenthal et al. (140) berichteten von drei Patienten, die nach Einnahme von Diphenylhydantoin ein der MF ähnliches Pseudolymphom mit zirkulierenden SC entwickelten.

Möglicherweise unterscheiden sich die SC bei gutartigen Hauterkrankungen und SS in ihrem Chromosomensatz und DNA-Inhalt. Allerdings böte eine solche Differenz kein morphologisches Substrat. Zur Klärung dieser Theorie wären genaue zytophotometrische Studien der SC, sowohl bei den SS als auch bei benignen Erkrankungen nötig, die bisher noch nicht vorliegen.

Zusammenfassung:

Zirkulierende Sézary-Zellen scheinen bei Gesunden eine Helferfunktion zu besitzen. Auf welche Art und Weise beim SS und bei der MF sehr viele SC in die Blutbahn gelangen, ist noch immer ungeklärt. Morphologisch besteht kein Unterschied zwischen SC bei gutartigen Hauterkrankungen und bei den SS.

7. ZUSAMMENFASSENDE BEANTWORTUNG DER ZUR DISKUSSION GESTELLTEN FRAGEN

1. Eine Sézary-Zelle ist durch einen $NCI > 6,5$ oder durch Kerneinbuchtungen, deren Summe mehr als das 1,5fache des größten Kerndurchmessers beträgt, charakterisiert.
2. Die größte Leistungsfähigkeit der angewandten Untersuchungsmethoden Blutausstrich-, Semidünnschnittanalyse und morphometrische Auswertung der Ultradünnschnitte besitzt letztere, eine ausreichende die Semidünnschnittuntersuchung und eine ungenügende die Blutausstrichauswertung.
3. Durch folgende ultrastrukturellen Bedingungen für das Vorhandensein eines Sézary-Syndroms lassen sich alle benignen Hauterkrankungen einschließlich des angioimmunoblastischen Lymphoms von den Sézary-Syndromen in dieser Studie abgrenzen:
 - a) Sézary-Zellen $> 9\%$
 - b) Übergangslymphozyten $> 20\%$
 - c) Summe von Übergangslymphozyten und Sézary-Zellen $> 37\%$Alle anderen Differenzierungskriterien (Sézary-Zellen/ μ l, 25. bzw. 70. Perzentile und Mittelwert der NCI-Verteilung sowie die Sézary-Zelle mit dem höchsten NCI) liefern nur gleich gute oder schlechtere Ergebnisse.
4. Bei allen untersuchten Fällen konnten zirkulierende Sézary-Zellen - wenn auch in geringer Zahl - nachgewiesen werden. Von den als Pre-Sézary-Syndrom eingestuftten Patienten konnten bei KBI und WL die Bedingungen für ein Sézary-Syndrom erfüllt werden.

Einen Zusammenhang zwischen der Höhe der zirkulierenden Sézary-Zellen und der Prognose bei den Sézary-Syndromen, bei der Mycosis fungoides und der Parapsoriasis en plaques konnte nicht festgestellt werden.

5. Werden die ultrastrukturellen Kriterien zur Unterscheidung von benignen Hauterkrankungen und Sézary-Syndromen in dieser Studie im Semidünnschnitt angewandt, so ergibt sich eine Spezifität von 100% und eine Sensibilität von 66%. Dieses Verfahren eignet sich daher gut zur Bestätigung der Diagnose eines Sézary-Syndroms, nicht jedoch zum Ausschluß dieser.
Für eine solche Fragenstellung ist der Einsatz der Elektronenmikroskopie erforderlich.
6. Für die Semidünnschnittuntersuchung wird die Auswertung von 300 lymphoiden Zellen, für die Elektronenmikroskopie die von 100 Zellen empfohlen.
7. Ab einer bestimmten Zahl zirkulierender Sézary-Zellen und Übergangslymphozyten wird nur noch eine maligne Verlaufsform, nämlich das Sézary-Syndrom bzw. Mycosis fungoides beobachtet.
Da zirkulierende Sézary-Zellen auch bei Gesunden und benignen Hauterkrankungen nachweisbar sind, scheinen sie auch physiologische Funktionen zu besitzen.
Mit rein morphologischen Mitteln (z.B. durch die Größe der Zelldurchmesser oder durch die Zahl der Kerneinsbuchtungen) läßt sich im Einzelfall eine Sézary-Zelle bei Gesunden bzw. gutartigen Hauterkrankungen nicht von einer Sézary-Zelle beim Sézary-Syndrom unterscheiden.
8. Der Durchmesser lymphoider Zellen im Blutaussstrich ist im Durchschnitt 1,44 mal größer als im Ultradünnschnitt.
Trotz des Ausgleichs dieser methodisch bedingten Differenz konnten wir im Vergleich zur Literatur keine so großen Sézary-Zellen beobachten. Möglicherweise sahen wir nur die kleinzellige Variante der Sézary-Zelle.

Größenunterschiede der Sézary-Zellen konnten beim Sézary-Syndrom zwischen einzelnen Blutproben nachgewiesen werden. Ferner bestehen Größendifferenzen zwischen den "Blut-Sézary-Zellen" und "Lymphknoten-Sézary-Zellen" bei einem T-immunoblastischen Lymphom. Differenzen im Zelldurchmesser konnten auch zwischen den Sézary-Zellen beim Sézary-Syndrom und den Sézary-Zellen bei der Mycosis fungoides bzw. bei den Pre-SS sowie zwischen allen beobachteten Sézary-Zellen und den lymphoiden Zellen gesunder Normalpersonen festgestellt werden.

9. Bis auf niedrigere Leukozyten- und Lymphozytenwerte bei unseren Sézary-Syndromen im Vergleich zu den bisher publizierten Sézary-Syndromen ergeben sich aus unserem Patientengut bezüglich klinischer, anamnestischer oder laborchemischer Daten keine neuen Erkenntnisse.

8.0 ZUSAMMENFASSUNG

Im ersten Teil der Arbeit wird der bisherige Wissensstand über die Sézary-Zellen aufgezeigt. Es besteht noch Unklarheit darüber, welchen Anteil zirkulierende Sézary-Zellen an den lymphoiden Blutzellen beim Sézary-Syndrom besitzen müssen, um gutartige Erythrodermien ausschließen zu können und mit welcher Methode zirkulierende Sézary-Zellen verlässlich entdeckt werden können.

Deshalb wurden insgesamt 37 Blutproben von 32 Patienten auf zirkulierende Sézary-Zellen untersucht. Darunter befanden sich 8 Sézary-Syndrome, 7 gutartige Erythrodermien und 3 Gesunde. Drei Untersuchungsmethoden (Blutausstrich, Semidünnschnitt und die nuclear contour index (NCI) unterstützte Analyse der Ultradünnschnitte) wurden miteinander verglichen. Unterscheidungskriterien zwischen Sézary-Syndromen und gutartigen Hauterkrankungen wurden im Ultradünnschnitt gesucht: zusätzlich zu den Sézary-Zellen ($NCI > 6,5$) erwiesen sich die Übergangslimphozyten ($5,0 < NCI \leq 6,5$) als nützlich.

Die Sézary-Syndrome konnten klar abgegrenzt werden, falls die folgenden drei ultrastrukturellen Kriterien erfüllt wurden: (1) Sézary-Zellen $> 9\%$ (2) Übergangslimphozyten $> 20\%$ (3) Summe von Sézary-Zellen und Übergangslimphozyten $> 37\%$. Die Prozentzahlen beziehen sich auf den Anteil an den lymphoiden Blutzellen. Zwischen Semi- und Ultradünnschnitt wurde eine gute Korrelation erreicht. Dagegen besaß die Blutausstrichuntersuchung eine zu geringe Validität. Gewöhnlich waren die Sézary-Zellwerte im Ultradünnschnitt etwas höher als im Semidünnschnitt. Die Diagnose eines Sézary-Syndroms kann im Semidünnschnitt gestellt werden, falls die ultrastrukturellen Kriterien erfüllt werden. Mit diesem Vorgehen wurden 8 von 12 Blutproben der Sézary-Syndrome richtig diagnostiziert. Deshalb werden Semidünnschnitte (betrachtet im Lichtmikroskop) als Routinemethode für die Untersuchung auf Sézary-Zellen empfohlen. Die morphometrische Ultradünnschnittanalyse ist nur zum Ausschluß eines Sézary-Syndroms oder bei Problemfällen nötig.

9.0 NACHTRAG

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden bereits auf der Tagung der European Society for Dermatological Research 1982 in Amsterdam vorgetragen (163) und in Fachzeitschriften publiziert (152, 164).

Kurz nach der Fertigstellung der vorliegenden Studie veröffentlichten Willemze et al. (187) 1983 eine Arbeit, in der ebenfalls aufgrund von Blutbefunden eine Abgrenzung gutartiger Erythrodermien von frühen Stadien des SS versucht wurde. Ihr Krankengut setzte sich aus 32 Patienten mit einer Erythrodermie zusammen, wovon 8 an SS, 4 an MF, 14 an atopischer oder chronischer Dermatitis und 6 an Psoriasis erkrankt waren.

Auch hier lieferte die Blutausstrichuntersuchung auf Sézary-Zellen unbefriedigende Ergebnisse, so daß die lymphoiden Zellen morphometrisch analysiert werden mußten.

7 von 8 SS und kein Patient mit gutartiger Erythrodermie erfüllte mindestens eine der folgenden Bedingungen:

- a) Mittelwert der NCI-Verteilung $\geq 5,5$
- b) Zahl der Sézary-Zellen unter den lymphoiden Blutzellen $> 20\%$
- c) Vorliegen von Sézary-Zellen mit einem NCI $\geq 11,5$

Die Tabelle XXVI zeigt die Ergebnisse, falls sowohl die Kriterien von Willemze et al. (187) als auch unsere auf beide Studien angewandt werden. Allerdings dürften die Resultate von Willemze et al. (187) etwas ungenauer sein, da sie als Minimum nur 75 lymphoide Zellen im Gegensatz zu 100 in unserer Arbeit morphometrierten.

Aus Tabelle XXVI folgt, daß durch die Kriterien beider Studien, die gleiche Anzahl richtiger Diagnosen möglich wird.

Werden zusätzlich für das Vorhandensein eines Sézary-Syndroms noch mindestens 500 SC/ μ l Blut gefordert, so ist unsere Kombi-

nation der von Willemze et al. (187) mit 49 zu 45 richtig positiven Diagnosen überlegen.

Der große Vorteil der von uns verwandten Kriterien liegt jedoch vor allem in der Möglichkeit der Anwendung im Semidünnschnitt und dadurch verkürzt und erleichtert sich das gesamte Diagnoseverfahren doch ganz erheblich.

Möglicherweise zwingen weitere morphometrische Arbeiten über die lymphoiden Blutzellen beim SS und bei gutartigen erythrodermatischen Hauterkrankungen zu einer Verfeinerung der bisher bestehenden Diagnosekriterien.

Im Gegensatz zu Pincelli et al. (131) beobachteten auch Willemze et al. (187) bei fast jeder gutartigen erythrodermatischen Hauterkrankung und bei Gesunden zirkulierende Sézary-Zellen.

Sézary-Syndrome			gutartige Hauterkrank.		Anzahl richtig positiver Diagnosen
Willemze et al.	Stolz et al.	Summe	Willemze et al.	Stolz et al.	
<u>Willemze et al. 1983 (187)</u>					
NCI-Mittelwert $\geq 5,5$ oder					
Sézary-Zellen $\geq 20\%$ oder					
NCI $\geq 11,5$					
7/8	9/12	16/20	0/19	3/30	43/50
<u>Stolz et al. 1983 (164)</u>					
Sézary-Zellen $\geq 9\%$ und					
Übergangslymphozyten $\geq 20\%$ und					
Summe Sézary-Zellen + Übergangs- Lymphozyten $\geq 37\%$					
7/8	12/12	19/20	6/19	6/30	43/50
<u>Kriterien Willemze et al. (187)</u>					
und Sézary-Zellen/ul Blut					
≥ 500					
6/8	9/12	15/20	0/19	0/30	45/50
<u>Kriterien Stolz et al. (164)</u>					
und Sézary-Zellen/ul Blut					
≥ 500					
7/8	12/12	19/20	0/19	0/30	49/50

Erklärung: Es wird in jeder Spalte das Verhältnis als Sézary-Syndrom diagnostizierte Patienten / Gesamtzahl der untersuchten Fälle angegeben. Daraus folgt, daß in der Spalte der Sézary-Syndrome der Anteil der richtig positiven Diagnosen und in der Rubrik der gutartigen Hauterkrankungen der Anteil der falsch positiven Diagnosen aufgeführt ist.

10.0 LITERATURÜBERSICHT

1. Ackerman AB, Breza TS, Capland L (1974) Spongiotic stimulants of mycosis fungoides. Arch Dermatol 109: 218-220
2. Aisenberg AC, Bloch KJ, Long JC, Colvin RB (1973) Reaction of normal human lymphocytes and chronic lymphocytes leukemia cells with an anti-thymocyte antiserum. Blood 41: 417-423
3. Alderson WE, Barrow GI, Turner RL (1955) Sézary's syndrome. Br Med J 1: 256-260
4. Baccaredda A (1939) Retikulohistiocytosis cutanea hyperplastica benigna cum melanodermia. Arch Dermatol Syphilol 179: 209-256
5. Bardach H, Raff M (1977) Poikilodermatische Parapsoriasis. Hautarzt 28: 542-546
6. Basten A, Miller JFAP, Sprent PYEJ (1970) A receptor for antibody on B-lymphocytes. I. Method of detection and functional significance. J Exp Med 135: 610-626
7. Begemann H (1982) Praktische Hämatologie. Thieme, Stuttgart
8. Bessis M (1973) Living blood cells and their ultrastructure. Springer, Berlin Heidelberg New York
9. Bianco C, Patrick R, Nussenzweig N (1970) A population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody-complement complexes. J Exp Med 182: 702-720
10. Bluefarb SM (1955) Is mycosis fungoides an entity? Arch Dermatol 71: 293-302
11. Bonvalet D, Colau-Gohm K, Belaich S, Civatte J, Degos R (1977) Les différentes formes du parapsoriasis en plaques (à propos de 90 cas). Ann Dermatol Vénéréol 104: 18-25
12. Boyum A (1968) Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand J clin Lab Invest 21, Suppl 97: 77-89

13. Braun-Falco O, Schmoeckel C, Wolff HH (1977) The ultra-structure of mycosis fungoides, of Sézary's syndrome, and of Woringer-Kolopp's disease (pagetoid reticulosis). Bull Cancer (Paris) 64: 191-208
14. Braun-Falco O, Burg G, Schmoeckel C (1978) Klassifikation von malignen Hautlymphomen. Hautarzt (Suppl III) 29: 37-45
15. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH (1984) Dermatologie und Venerologie. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo
16. Braylan R, Variakojis D, Yachnin S (1975) The Sézary syndrome lymphoid cell: abnormal surface properties and mitogen responsiveness. Br J Haematol 31: 553-564
17. Broder S, Muul L, Marshall S, Waldmann TA (1980) Neoplasms of immunoregulatory T-cells in clinical investigation. J Invest Dermatol 74: 267-277
18. Broome JD, Zucker-Franklin D, Weiner MS, Bianco C, Nussen-zweig V (1973) Leukemic cells with membrane properties of thymus-derived (T) lymphocytes in a case of Sézary's syndrome: morphologic and immunologic studies. Clin Immunol Immunopathol 1: 319-329
19. Brouet J-C, Flandrin G, Seligmann M (1973) Indications of the thymus-derived nature of the proliferating cells in six patients with Sézary's syndrome. N Engl J Med 289: 341-344
20. Brownlee TR, Murad TM (1970) Ultrastructure of mycosis fungoides. Cancer 26: 686-698
21. Büchner SA (1981) Sézary syndrome after successful treatment of Hodgkin's disease. Arch Dermatol 117: 50-54
22. Büchner SA, Winkelmann RK (1983) Pre-Sézary erythroderma evolving to Sézary syndrome. Arch Dermatol 119: 285-291
23. Bunn PA Jr, Lamberg SI (1979) Report of the committee on staging and classification of cutaneous T-cell lymphomas. Cancer Treat Rep 63: 725-728

24. Burg G, Braun-Falco O (1974) Qualitative und quantitative Aspekte der cellulären Reaktion in Haut und Blut bei Mycosis fungoides. *Hautarzt* 25: 178-187
25. Burg G, Braun-Falco O (1975) Classification and differentiation of cutaneous lymphomas. *Br J Dermatol* 93: 597-599
26. Burg G, Rodt H, Grosse-Wilde H, Netzel B, Fateh-Moghadam A, Braun-Falco O (1977) Enzyme cytochemical and immunocytological studies as a basis for the reevaluation of the histology of cutaneous B-cell and T-cell lymphomas. In: Thierfelder S, Rodt H, Thiel E (eds) *Haematology and blood transfusion*, vol 20. Immunological diagnosis of leukemias and lymphomas. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 179-187
27. Burg G, Braun-Falco O (1978) Methoden zur Klassifikation der Hautlymphome. *Hautarzt (Suppl III)* 29: 5-13
28. Burg G, Braun-Falco O, Schmoeckel C (1978) Kutane T-Zell-Lymphome. *Fortschr Med* 96: 199-205
29. Burg G, Kerl H, Braun-Falco O, Schmoeckel C, Wolff HH, Kresbach H (1978) Morphological and functional typing of lymphoma cutis. *International Dermatopathology Symposium*, 16-18 June 1978, Munich
30. Burg G, Rodt H, Grosse-Wilde H, Braun-Falco O (1978) Surface markers and mitogen response of cells harvested from cutaneous infiltrates in mycosis fungoides and Sézary's syndrome. *J Invest Dermatol* 70: 257-259
31. Burg G, Braun-Falco O (1983) Cutaneous lymphomas, pseudolymphomas, and related disorders. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo
32. Buscke W, Simons AG, Anders HE (1933) Mycosis fungoides mit Beteiligung des Zentralnervensystems. Abstrakt. *Zentralbl Haut Geschlechtskr* 43: 723-724
33. Chu AC, Morgan EM, Mac Donald DM (1980) Ultrastructural identification of T-lymphocytes in tissue sections of mycosis fungoides. *J Invest Dermatol* 74: 17-20

34. Civatte A (1951) Le cinquantenaire du parapsoriasis.
Ann Derm Syph (Paris) 78: 5-22
35. Clendenning WE, Brecher G, Van Scott EJ (1964) Mycosis fungoides. Relationship to malignant cutaneous reticulosis and the Sézary syndrome. Arch Dermatol 89: 785-792
36. Clendenning WE, Rappaport HW (1979) Report of the committee on pathology of cutaneous T-cell lymphomas. Cancer Treat Rep 63: 719-721
37. Cohen MI, Widerlit E, Schechter GP, Jaffe E, Fischmann AB, Schein PS, Mac Donald JS (1977) Gastrointestinal involvement in the Sézary syndrome. Gastroenterology 73: 145-149
38. Cohen SR, Stenn KS, Braverman IM, Beck GJ (1980) Mycosis fungoides: clinicopathologic relationships, survival, and therapy in 59 patients with observations on occupation as a new prognostic factor. Cancer 46: 2654-2666
39. Cooperrider PH, Roenigk HH (1978) Selective immunological evaluation of mycosis fungoides. Arch Dermatol 114: 207-212
40. Crane RM, Heydt S (1979) Gingival involvement in mycosis fungoides: Report of case. J Oral Surg 37: 585-587
41. Crossen PE, Mellor JEL, Finley AG, Ravich RBM, Vincent PC, Gunz FW (1971) The Sézary syndrome. Cytogenetic studies and identification of the Sézary cell as an abnormal lymphocyte. Am J Med 50: 24-34
42. Dardick I, Setterfield S, Hall R, Bladon T, Little J, Kaplan G (1981) Nuclear alterations during lymphocyte transformation. Relationship to the heterogeneous morphologic presentations of Non-Hodgkin's lymphomas. Am J Pathol 103: 10-20

43. De Vries E, van Leeuwen AWF, van der Putte LBA, Lefeber GJM, Meijer CJLM (1977) Atypical T-cells in rheumatoid synovial membranes. *Virchows Arch (Cell Path)* 24: 19-26
44. Dick HM, Mackie R, De Sousa MB (1976) HLA and mycosis fungoides. In: *Proceedings of the first International Symposium on HLA and Disease, Paris*, p. 99
45. Dickler HB, Kunkel HG (1972) Interaction of aggregated gamma globulin with B-lymphocytes. *J Exp Med* 136: 191-196
46. Ding JC, Adams PB, Patison M, Cooper IA (1975) Thymic origin of abnormal lymphoid cells in Sézary's syndrome. *Cancer* 29: 1325-1332
47. Duncan SC, Winkelmann RK (1978) Circulating Sézary cells in hospitalized dermatology patients. *Br J Dermatol* 99: 171-178
48. Ebner H, Kühböck J, Pietschmann H (1970) Das Sézary-Syndrom. *Dermatologica* 141: 257-269
49. Edelson RL, Kirkpatrick CH, Shevach EM, Schein PS, Smith RW, Green I, Lutzner M (1974) Preferential cutaneous infiltration by neoplastic thymus-derived lymphocytes. *Ann Intern Med* 80: 685-692
50. Edelson RL, Lutzner MA, Kirkpatrick CH, Shevach EM (1974) Morphologic and functional properties of the atypical T-lymphocytes of the Sézary syndrome. *Mayo Clin Proc* 49: 558-566
51. Edelson RL (1979) Cutaneous T-cell lymphoma. In: Moschella S (ed) *Dermatology update*. Elsevier, New York, pp 195-207
52. Edelson RL (1980) Cutaneous T-cell lymphoma: mycosis fungoides, Sézary's syndrome, and other variants. *J Am Acad Dermatol* 2: 89-106
53. Ellis H, Pauly JF, Burns ER (1978) Quantitative microscopy. In: *Histology and human microanatomy*. John Wiley and Sons, New York, pp 547-576

54. Epstein EH Jr, Levin DL, Croft JD Jr, Lutzner MA (1972) Mycosis fungoides. Survival, prognostic features, response to therapy, and autopsy findings Medicine (Baltimore) 15: 61-72
55. Fawcett DW (1973) Atlas zur Elektronenmikroskopie der Zelle. Urban und Schwarzenberg, München Berlin Wien, S 26-30
56. Fischmann AB, Bunn PA, Guccion JG, Matthews MJ, Minna JD (1979) Exposure to chemicals, physical agents, and biologic agents in mycosis fungoides and the Sézary syndrome. Cancer Treat Rep 63: 591-596
57. Flandrin G, Brouet J-C (1974) The Sézary cell: cytologic, cytochemical, and immunologic studies. Mayo Clin Proc 49: 575-583
58. Flandrin G, Daniel MT (1974) β -Glucuronidase activity in Sézary cells. Scand J Haemat 12: 23-31
59. Flaxman BA, Zelazny G, Van Scott EJ (1971) Nonspecificity of characteristic cells in mycosis fungoides. Arch Dermatol 104: 141-147
60. Flaxman BA, Van Scott EJ, Goldman LI (1974) Sézary-like cells in cultures of normal human skin. Arch Dermatol 109: 577-578
61. Goldstone AH, Cawley JC, Roberts SO, Leventine A, Barker CR (1976) A case of small-cell Sézary's syndrome with null-cell features. J clin Path 9: 848-856
62. Golomb HM, Braylan R, Reese C, Variakojis D, Brynes RK, Yachnin S (1975) The Sézary syndrome cell: surface ultrastructural characteristics. Acta haemat 54: 106-114
63. Gomez Urbaneja J, Sanchez Yus E, Diaz-Fluores L, Simon Huarte P (1972) Cytology of the mycosis fungoides and the Sézary syndrome. Correlation between light and electron microscopy. Br J Dermatol 87: 96-105
64. Greene MH, Dalager NA, Lamberg SI, Argyropoulos CE, Fraumeni JF (1979) Mycosis fungoides: epidemiologic observations. Cancer Treat Rep 63: 597-606

65. Greer KE, Legum LL, Hess CE (1977) Multiple osteolytic lesions in a patient with mycosis fungoides. Arch Dermatol 113: 1242-1244
66. Guccion JG, Fischmann AB, Bunn PA Jr, Schechter GP, Patterson RH, Matthews MJ (1979) Ultrastructural appearance of cutaneous T cell lymphomas in skin, lymph nodes, and peripheral blood. Cancer Treat Rep 63: 565-570
67. Guilhou J-J, Meynadier J, Clot J (1978) Le syndrome de Sézary. Nouv Presse méd 7: 29-34
68. Gupta S, Safai B, Good RA (1978) Subpopulations of human T lymphocytes. IV. Quantitation and distribution in patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome. Cell Immunol 39: 18-26
69. Hamburg A, Brynes RK, Reese C, Golomb HM (1976) Human cord blood lymphocytes. Ultrastructural and immunologic surface marker characteristics: a comparison with B- and T-cell lymphomas. Lab Invest 34: 207-215
70. Hamminga L, Hartgrink-Groeneveld CA, van Vloten WA (1979) Sézary's syndrome: a clinical evaluation of eight patients. Br J Dermatol 100: 291-296
71. Hauch TW, Shelbourne JD, Cohen HJ, Mason D, Kremer WB (1975) Meningeal mycosis fungoides: clinical and cellular characteristics. Ann Intern Med 82: 499-505
72. Heaphy MR, Winkelmann RK (1976) Variations in peripheral Sézary cell count. Arch Dermatol 112: 560
73. Himmelfarb J, Desvaux J, Brändle I, Grosshans E (1976) Der Verlauf der Parapsoriasis en plaques (Brocq'sche Krankheit). Z Hautkr 52: 658-662
74. Heile H, Himmelfarb J (1981) Häufigkeitsanalytische Untersuchungen zur Symptomatologie der Mycosis fungoides. Arch Dermatol Syphilol 193: 118-142
75. Hoagland HC (1974) Atypical lymphocytes. Mayo Clin Proc 49: 526-535
76. Holdaway DR, Winkelmann RK (1974) Histopathology of Sézary syndrome. Mayo Clin Proc 49: 541-547

77. Hood AF, Mark GJ, Hunt JV (1979) Laryngeal mycosis fungoides. *Cancer* 43: 1527-1532
78. Huhn D, Dobbelstein H, Engelhardt D (1972) Sézary-Syndrom. *Blut* 25: 352-363
79. Huhn D (1976) Lymphozytopoese. In: Ruzicka F (Hrsg) *Elektronenmikroskopische Hämatologie*. Springer, Wien New York, S 197-246
80. Huhn D, Rodt H, Thiel E, Fink U, Ruppelt W (1976) *Elektronenmikroskopische immunhistochemische Untersuchungen an menschlichen Lymphozyten*. *Blut* 32: 87-102
81. Huhn D, Thiel E, Rodt H, Schlimok G, Theml H, Rieber P (1983) Subtypes of T-cell chronic lymphatic leukemia. *Cancer* 51: 1434-1447
82. Hundeiker M, Löffler H (1976) Hämosiderinpigmentierung beim Sézary-Syndrom. *Hautarzt* 27: 492-494
83. Immich H (1974) *Medizinische Statistik: eine Einführungsvorlesung*. Schattauer, Stuttgart
84. Ingram JT (1953) Pityriasis lichenoides and parapsoriasis. *Br J Dermatol* 65: 293-299
85. Israel RH (1977) Mycosis fungoides with pulmonary involvement: case report. *Radiology* 125: 10
86. Johnson SC, Cripps DJ, Norback DH (1979) Actinic reticuloid: a clinical, pathologic, and action spectrum study. *Arch Dermatol* 115: 1073-1083
87. Jondal M, Holm G, Wigzell H (1972) Surface markers on human T- and B-lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells. *J Exp Med* 136: 207-215
88. Kansu E, Hauptmann SP (1979) Suppressor cell population in Sézary syndrome. *Clin Immunol Immunopathol* 12: 341-350
89. Keltner JL, Fritsch E, Cykiert RC (1977) Mycosis fungoides: Intraocular and central nervous system involvement. *Arch Ophthalmol* 95: 645-650

90. Kerl H (1980) Sézary-Syndrom - Klinik und Histologie.
Z Hautkr 55: 1269-1273
91. Kerl H (1981) Das Sézary-Syndrom. Zentralbl Haut Ge-
schlkr 144: 359-380
92. Kienitz T, Burg G, Schmoekel C, Weitz H, Braun-Falco
O (1979) High-grade malignant lymphoma arising from
Sézary's syndrome. Dermatologica 158: 126-136
93. Kim R, Winkelmann RK, Dockerty M (1963) Retikulumcell-
sarkoma of the skin. Cancer 16: 646-655
94. Kövary PM, Niedorf H, Sommer G, Breu H, Kamanabroo D,
Büchner T, Macher E (1977) Paraproteinaemia in
Sézary's syndrome. Dermatologica 154: 138-146
95. Kövary PM, Niedorf H, Kamanabroo D, Schwale M, Macher
E (1979) Das Sézary-Syndrom. Dt Ärztebl 48: 3181-
3185
96. Kövary PM, Suter E, Macher E, Niedorf H, Grundmann E,
Lukitsch J, Herberg J, Intorp H, Schürmeyer E,
Kamanabroo D, Losse H (1981) Monoclonal gammo-
pathies in Sézary's syndrome. A report of four
new cases and a review of the literature. Cancer
49: 1001-1012
97. Konrads A, Laaser U, Hummerich W, Krüger GRF, Schaefer
HE (1980) Das Sézary-Syndrom aus internistischer
Sicht. Med Welt 31: 811-813
98. Konrads A, Laaser U, Mödder B, Hummerich W, Lang R,
Maurer MA, Bach J, Steinbrich W, Krüger GRF,
Schaefer HE (1980) Sézary-Syndrom. Dtsch Med
Wochenschr 105: 378-383
99. Korting GW, Nürnberger F (1970) Sézary-Syndrom.
Hautarzt 21: 178-181
100. Kresbach H, Kerl H (1980) Kutane maligne Lymphome.
Z Hautkr 55: 1260-1266
101. Lane CG, Greenwood AM (1933) Lymphoblastoma (Mycosis
fungoides) and hemorrhagic sarcoma of Kaposi in the
same person. Arch Dermatol Syphilol 27: 643-657

102. Laroche L, Papiernik M, Bach J-F (1983) Sézary syndrome. I. Specific skin-directed migration of peripheral blood lymphocytes. *J Immunol* 130: 2467-2470
103. Laskaris GC, Nicolis GD, Capetanakis JP (1978) Mycosis fungoides with oral manifestations. *Oral Surg* 46: 40-42
104. Lawrence EC, Broder S, Jaffe ES, Braylan RC, Dobbins WO, Young RC, Waldmann TA (1978) Evolution of a lymphoma with helper T-cell characteristics in Sézary syndrome. *Blood* 52: 481-492
105. Lefeber WP, Robinson JK, Clendenning WE, Dunn JL, Colton T (1981) Attempts to enhance light microscopic diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides) *Arch Dermatol* 117: 408-411
106. Lehrer S, Yoo OH, Roswit B (1978) Mycosis fungoides with pulmonary manifestations. *Mt Sinai J Med* 45: 748-753
107. Lennert K (1977) Non-Hodgkin-Lymphome. In: Eder M, Gedigk P (Hrsg) *Lehrbuch der Allgemeinen und der Pathologischen Anatomie*. Springer, Berlin Heidelberg New York, S 405-411
108. Litovitz TL, Lutzner MA (1974) Quantitative measurements of blood lymphocytes from patients with chronic lymphocytic leukemia and the Sézary syndrome. *J Natl Cancer Inst* 53: 75-77
109. Löffler H, Meyhöfer W, Lange RH, Ehlers G, Remmele W (1974) Sézary-Syndrom. *Dtsch Med Wochenschr* 99: 429-434
110. Löffler H (1980) Cytologische und cytochemische Untersuchungen beim Sézary-Syndrom. *Z Hautkr* 55: 1274-1280
111. Luft JH (1961) Improvements in epoxy resin embedding methods. *J biophys biochem Cytol* 9: 409-414
112. Lundberg WB, Cadman EC, Skeel RT (1976) Leptomeningeal mycosis fungoides. *Cancer* 38: 2149-2153
113. Lutzner MA, Jordan HW (1968) The ultrastructure of an abnormal cell in Sézary's syndrome. *Blood* 31: 719-726

114. Lutzner MA, Hobbs JW, Horvath MD (1971) Ultrastructure of abnormal cells. Arch Dermatol 103: 375-386
115. Lutzner MA, Emerit I, Durepaire R, Flandrin G, Grupper C, Prunieras M (1973) Cytogenetic, cytophotometric, and ultrastructural study of the Sézary syndrome and description of a small cell variant. J Natl Cancer Inst 50: 1145-1162
116. Lutzner MA, Edelson R, Schein P, Green I, Kirkpatrick C, Ahmed A (1975) Cutaneous T-cell lymphomas: the Sézary syndrome, mycosis fungoides, and related disorders. Ann Intern Med 83: 534-552
117. Mackie R, Sless FR, Lochran R, de Sousa M (1976) Lymphocyte abnormalities in mycosis fungoides. Br J Dermatol 94: 173-178
118. Main RA, Goodall HB, Swanson WC (1959) Sézary's syndrome. Br J Dermatol 71: 335-343
119. Matthews M, Gazdar A (1979) Classification of patterns of lymph node involvement in cutaneous T-cell lymphomas. Cancer Treat Rep 63: 721
120. Mc Millan EM, Wasiak R, Peters J, Jackson I, Stoneking L, Everett MA (1983) OKT 9 reactivity in mycosis fungoides and large plaque (atrophic) parapsoriasis. Cancer 51: 1403-1407
121. Mc Nutt N, Crain WR (1981) Quantitative electron microscopic comparison of lymphocytic nuclear contours in mycosis fungoides and in benign infiltrates in skin. Cancer 47: 698-709
122. Meijer CJLM, van Leeuwen AWMF, van der Loo EM, van de Putte LBA, van Vloten WA (1977) Cerebriform (Sézary like) mononuclear cells in healthy individuals: a morphologically distinct population of T-cells. Virchows Arch (Cell Pathol) 25: 95-104
123. Meijer CJLM, van der Loo EM, van Vloten WA, van der Velde EA, Scheffer E, Cornelisse CJ (1980) Early diagnosis of mycosis fungoides and Sézary's syndrome by morphometric analysis of lymphoid cells in the skin. Cancer 45: 2864-2871

124. Molin L, Thomsen K, Volden G (1978) Serum Ig E in mycosis fungoides. *Br J Med* 1: 920-921
125. Moran EM, Walther JR, Aronson IK, Variakojis D (1977) Clinical significance of circulating Sézary cells in mycosis fungoides. *Proc Am Soc Clin Oncol* 18: 276
126. Myrie C, Zucker-Franklin D, Ramsey D (1980) Light-microscopic analysis of sectioned Sézary cells: an accurate alternative to electron microscopy. *Am J Pathol* 99: 243-252
127. Noguchi S, Robinowitz BN (1976) Sézary-like cells from supernatant of Burkitt lymphocyte cell culture. *Arch Dermatol* 112: 1612-1613
128. O'Reilly GV, Clark TM, Crump CP (1977) Skeletal involvement in mycosis fungoides. *AJR* 129: 741-743
129. Pariser DM (1978) Mycosis fungoides involving the brain and optic nerves. *Arch Dermatol* 114: 397-399
130. Petrozzi JW, Raque CJ, Goldschmidt H (1971) Malignant lymphoma, retikulum cell type: ultrastructural and cytological demonstration of Lutzner cells. *Arch Dermatol* 104: 38-44
131. Pincelli C, Dean AJ, Warin AP (1980) The absence of Sézary cells in the peripheral blood of patients with generalized inflammatory dermatoses. *Clin Exp Derm* 5: 67-71
132. Pruniéras M (1975) The Sézary's syndrome. *Trans a Rep St John's Hosp derm Soc (Lond)* 61: 1-10
133. Pruniéras M (1978) Le syndrome et la cellule de Sézary. *Dermatologica* 157: 371-376
134. Raff MC (1970) Two distinct populations of peripheral lymphocytes in mice distinguishable by immunofluorescence. *Immunology* 19: 637-650
135. Rappaport H, Thomas LB (1974) Mycosis fungoides: the pathology of extracutaneous involvement. *Cancer* 34: 1198-1229
136. Rick W (1974) *Klinische Chemie und Mikroskopie*. Springer, Berlin Heidelberg New York

137. Rückl H, Metz J (1978) Das Sézary-Syndrom, Geschichte, Klinik und nosologische Bedeutung. *Hautarzt* (Suppl III) 29: 53-56
138. Romen W, Altmann HW (1977) Die Struktur des funktionsgestörten Nukleolus. *Klin Wschr* 55: 563-567
139. Rosas-Urbe A, Variakojis D, Molnar Z, Rappaport H (1974) Mycosis fungoides: an ultrastructural study. *Cancer* 34: 634-645
140. Rosenthal CJ, Noguera CA, Coppola A, Kapelner SN (1982) Pseudolymphoma with mycosis fungoides manifestations, hyperresponsiveness to diphenylhydantoin, and lymphocyte dysregulation. *Cancer* 49: 2305-2314
141. Rosenthal SK (1982) Beiträge zur Kenntnis der exfoliativen generalisierten Erythrodermie. I. Erythrodermia leucaemica. *Arch Dermatol Syphilol* 154: 1-16
142. Said JW, Pinkus GS (1981) Immunologic characterization and ultrastructural correlations for 125 cases of B- and T-cell leukemias. *Cancer* 48: 2630-2642
143. Sandbank M, Katzenellenbogen I (1968) Mycosis fungoides of prolonged duration in siblings. *Arch Dermatol* 98: 620-627
144. Schechter GP, Bunn PA, Fischmann AB, Matthews MJ, Jaccob J, Soehnlein E, Munson D, Minna JD (1979) Blood and lymph node T lymphocytes in cutaneous T cell lymphoma: evaluation by light microscopy. *Cancer Treat Rep* 63: 571-574
145. Scheffer E, Meijer CJLM, van Vloten WA (1980) Dermatopathic lymphadenopathy and lymph node involvement in mycosis fungoides. *Cancer* 45: 137-148
146. Schein PS, MacDonald JS, Edelson R (1976) Cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer* 38: 1859-1861
147. Schettler G (1980) *Innere Medizin*. Thieme, Stuttgart New York
148. Schmitt D, Viac J, Brochier J, Thivolet J (1976) Thymus-derived origin of Sézary cells demonstrated by peroxidase-conjugated anti-HTLA serum. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 56: 489-497

149. Schmitt D, Thivolet J, Souteyrand P, Fulton R, Germain D (1981) Helper phenotype of the Sézary cell: direct ultrastructural evidence using monoclonal antibodies. Arch Dermatol Res 270: 487-490
150. Schmoeckel C, Burg G, Braun-Falco O (1979) Quantitative analysis of lymphoid cells in mycosis fungoides, Sézary's syndrome and parapsoriasis en plaques. Arch Dermatol Res 264: 17-28
151. Schmoeckel C, Burg G, Braun-Falco O, Klingmüller G (1981) Mycosis fongoide a forte malignité avec transformation cytologique. Ann Dermatol Venereol 108: 231-241
152. Schmoeckel C, Burg G, Hoffmann-Fezer G, Stolz W, Weitz H, Löhrs U, Braun-Falco O (1982) Cutaneous immunoblastic T-cell lymphoma. Arch Dermatol Res 274: 141-154
153. Schrek R (1972) Ultrastructure of blood lymphocytes from chronic lymphocytic and lymphosarcoma cell leukemia. J Natl Cancer Inst 48: 51-64
154. Schwarze EW, Ude P (1975) Immunoblastic sarcoma with leukemic blood picture in the terminal stage of mycosis fungoides. Virchows Arch (Pathol Anat) 369: 165-172
155. Sézary A, Bouvraïn Y (1938) Erythrodermie avec présence de cellules monstrueuses dans le derme et le sang circulant. Bull Soc. Fr Dermatol Syphiligr 45: 254-260
156. Sézary A (1949) Une nouvelle réticulose cutanée. La réticulose maligne leucémique à histio-monocytes monstrueux et à forme d'érythrodermie oedémateuse et pigmentée. Ann Derm Syph 9: 5-22
157. Shackney SE, Edelson R, Bunn PA Jr (1979) The kinetics of Sézary cell production. Cancer Treat Rep 63: 659-661
158. Shamoto M, Murakami S, Zenke T (1981) Adult T-cell leukemia in Japan: an ultrastructural study. Cancer 47: 1804-1811

159. Smetana K (1970) Electron microscopy of lymphocytes.
In: Busch H (ed) Methods in cancer research, vol 5.
Academic Press, New York, pp 455-477
160. Smetana K (1974) Nukleoli of human non-leukemic blood lymphocytes. In: Libansky J, Donner L (eds) Present problems in haematology. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, pp 182-185
161. Smetana K, Daskai Y, Gyorkey F, Lehane DE, Rudolph AH, Busch H (1977) Nuclear and nucleolar ultrastructure of Sézary cells. Cancer Res 37: 2036-2042
162. Stingl P, Pichler WJ, Shevach EM (1978) T-Zell-Subpopulationen im Meerschweinchen. Wien Klin Wschr 9: 741-748
163. Stolz L, Schmoeckel C, Burg G, Braun-Falco O (1982) Circulating Sézary cells in Sézary syndrome. J Invest Dermatol 78: 322
164. Stolz W, Schmoeckel C, Burg G, Braun-Falco O (1983) Circulating Sézary cells in the diagnosis of Sézary syndrome (quantitative and morphometric analyses). J Invest Dermatol 81: 314-319
165. Tan AKA, Harrison M, Gralnick HR (1974) Nuclear topography in the abnormal cell of Sézary syndrome: observation by freeze-etch electron microscopy. J Natl Cancer Inst 52: 1367-1371
166. Tan RH-H, Butterworth CM, McLaughlin H, Malka S, Samman PD (1974) Mycosis fungoides: a disease of antigen persistence. Br J Dermatol 91: 607-616
167. Tanaka Y, Goodman JR (1972) Electron microscopy of human blood cells. Harper and Row, New York Evanston San Francisco London
168. Tappeiner J, Gschnait F (1978) Diagnose, Differentialdiagnose und Therapie der Mycosis fungoides. Hautarzt (Suppl III) 29: 47-51
169. Taswell HF, Winkelmann RK (1961) Sézary syndrome - a malignant reticulemic erythroderma. JAMA 177: 465-472

170. Thiers BH (1982) Controversies in mycosis fungoides.
J Am Acad Dermatol 7: 1-16
171. Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H
(1977) Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. Blood 50: 481-492
172. Vance JC, Cervenka J, Ullman S, Kersey JH, Sabad A, Green N (1977) Immunological and chromosomal studies in a patient with Sézary syndrome. Arch Dermatol 113: 1417-1423
173. Van der Loo EM, van Muijen GNP, van Vloten WA, Beens W, Scheffer E, Meijer CJLM (1979) C-type virus-like particles specifically localized in Langerhans cells and related cells of skin and lymph nodes of patients with mycosis fungoides and Sézary's syndrome. Virchows Arch (Cell Pathol) 31: 193-203
174. Van der Loo EM (1980) Basic and diagnostic aspects of cutaneous T-cell lymphomas. Proefschrift (PhD thesis). Dutch Efficiency Bureau, Pijnacker
175. Van der Loo EM, Cornelisse CJ, van Vloten WA, van der Velde EA, Scheffer E, Meijer CJLM (1980) Diagnostic morphometry of isolated lymph node cells from patients with mycosis fungoides and Sézary's syndrome. Virchows Arch (Cell Pathol) 33: 107-116
176. Van der Loo EM, Cnossen J, Meijer CJLM (1981) Morphological aspects of T-cell subpopulations in human blood: characterization of the cerebriform mononuclear cells in healthy individuals. Clin Exp Immunol 43: 506-516
177. Van der Loo EM, Meijer CJLM, Scheffer E, van Vloten WA (1981) The prognostic value of membrane markers and morphometric characteristics of lymphoid cells in blood and lymph nodes from patients with mycosis fungoides. Cancer 48: 738-744

178. Van der Loo EM, van Vloten WA, Cornelisse CJ, Scheffer E, Meijer CJLM (1981) The relevance of morphometry in the differential diagnosis of cutaneous T-cell lymphomas. *Br J Dermatol* 104: 257-269
179. Van der Putte SCJ, van der Meer JB (1981) Mycosis fungoides: a morphological study. *Clin Exp Dermatol* 6: 57-76
180. Van Leeuwen AWF, Meijer CJLM, De Man JCH (1975) T-cell membrane characteristics of "mycosis cells" in the skin and lymph node. *J Invest Dermatol* 65: 367-369
181. Van Leeuwen AWF, Meijer CJLM, van Vloten WA, Scheffer E, De Man JCH (1976) Atypical mononuclear (mycosis or Sézary type) cells with T-cell membrane characteristics in rheumatoid synovial fluids. *Proc Kon Ned Akad Wetensch Series C Biol Med Sci* 69: 267-272
182. Van Vloten WA, Schaberg A, van der Ploeg M (1977) Cytophotometric studies on mycosis fungoides and other cutaneous reticuloses. *Bull Cancer (Paris)* 64: 249-258
183. Vernon SE, Rosenthal DL (1979) Sézary cells in ascitic fluid. *Acta Cytol* 23: 408-411
184. Vonderheid EC, Fang SM, Helfrich MK, Abraham SR, Nicolini CA (1981) Biophysical characterization of normal T-lymphocytes and Sézary cells. *J Invest Dermatol* 76: 28-37
185. Vonderheid EC, Tam DW, Johnson WC, Van Scott EJ, Wallner PE (1981) Prognostic significance of cytomorphology in the cutaneous T-cell lymphomas. *Cancer* 47: 119-125
186. Weber K, Burg G, Wolff HH, Braun-Falco O, Ehlers G (1975) Sézary-Syndrom. Ein Bericht anhand eines Falles. *Hautarzt* 26: 255-259
187. Willemze R, van Vloten WA, Hermans J, Damsteeg MJM, Meijer CJLM (1983) Diagnostic criteria in Sézary's syndrome: a multiparameter study of peripheral blood lymphocytes in 32 patients with erythroderma. *J Invest Dermatol* 81: 392-397

188. Williams MA (1977) Quantitative methods in biology.
In: Glauert AM (ed) Practical methods in electron
microscopy, vol 6, part II. North-Holland Publishing
Company, Amsterdam New York Oxford, pp 48-63
189. Winkelmann RK (1974) Clinical studies of T-cell erythro-
derma in the Sézary syndrome. Mayo Clin Proc 49:
519-525
190. Winkelmann RK (1974) History of the Sézary syndrome.
Mayo Clin Proc 49: 515-518
191. Winkelmann RK, Perry HO, Muller SA, Schroeter AL, Jor-
dan RE, Rogers RS III (1974) The pre-Sézary erythro-
derma syndrome. Mayo Clin Proc 49: 588-589
192. Winkelmann RK, Caro WA (1977) Current problems in
mycosis fungoides and Sézary syndrome. Ann Rev Med
28: 251-269
193. Winkelmann RK, Hoagland HC (1980) The Sézary cell in
the blood of patients with mycosis fungoides.
Dermatologica 160: 73-79
194. Winkelmann RK, Szasz-Peters M (1981) Absolute number
of circulating Sézary cells. Arch Dermatol 1981: 382
195. Worman CP, Burns GF, Barker CR (1978) Evidence for the
presence of a receptor for Ig M on the pathological
cells of Sézary syndrome. Clin Exp Immunol 31:
391-396
196. Yeckley JA, Weston WL, Thorne G, Krueger GG (1975)
Production of Sézary-like cells from normal human
lymphocytes. Arch Dermatol 111: 29-32
197. Zachariae H, Ellegaard J, Grunett E, Sjøgaard H, Thulin
H (1975) T- and B-cells and Ig E in mycosis fungoides.
Acta Derm Venereol (Stockh) 55: 466-468
198. Zackheim HS (1981) Cutaneous T-cell lymphomas. A
review of the recent literature. Arch Dermatol
117: 295-304

199. Zackheim HS, Lebo CF, Wasserstein P, Mc Nutt NS, Epstein EH, Meyler S, Rosenbaum EH, Grekin DA (1983) Mycosis fungoides of the mastoid, middle ear, and CNS. Arch Dermatol 119: 311-318
200. Zina G, Bernengo MG, Zina AM (1981) Bullous Sézary syndrome. Dermatologica 163: 25-33
201. Zucker-Franklin D (1974) Properties of the Sézary lymphoid cell. Mayo Clin Proc 49: 567-574
202. Zucker-Franklin D, Melton JW III, Quagliata F (1974) Ultrastructural, immunologic, and functional studies on Sézary cells: a neoplastic variant of thymus-derived (T) lymphocytes. Proc Natl Acad Sci USA 71: 1877-1881
203. Zucker-Franklin D (1976) Thymus-dependent lymphocytes in lymphoproliferative disorders of the skin (Sézary syndrome and mycosis fungoides). J Invest Dermatol 67: 412-418

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. O. Braun-Falco danke ich sehr für die Überlassung des Arbeitsplatzes in der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Ch. Schmoeckel für die Überlassung des Themas, für die vielen Anregungen und die immerwährende Bereitschaft, anstehende Probleme und Fragen sehr ausführlich und geduldig zu besprechen.

Sehr verbunden bin ich Herrn Priv.-Doz. Dr. W. Köpcke und Herrn Kampe für die Unterstützung bei statistischen Fragestellungen.

Frau E. Januschke, Frau I. Pfab und Frau V. Teppert schulde ich großen Dank für die sorgfältige Einarbeitung in das Gebiet der Elektronenmikroskopie, das Herstellen der Semi- und Ultradünnschnitte und die Unterstützung bei den Fotoarbeiten.

Frau H. Kandler danke ich vielmals für das Schreiben des Manuskripts.

LEBENS LAUF

05.11.1958 Geburt in Schwabmünchen, Kreis Augsburg-Land
Eltern: Karl und Leni Stolz, geb.
Eberhard
Glaubensbekenntnis: römisch - katholisch

1965 - 1969 Besuch der Volksschule Untermeitingen

1969 - 1977 Mathematisch-naturwissenschaftlicher
Zweig des Dominikus-Zimmermann-Gymna-
siums in Landsberg am Lech.

November 1977 Aufnahme des Studiums der Humanmedizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität
München

August 1979 Physikum

August 1980 Erster Abschnitt des Staatsexamens

März 1983 Zweiter Abschnitt des Staatsexamens

April 1983 - MPJ-Student in der Dermatologischen
März 1984 Klinik und Poliklinik der Universität
München, in der Medizinischen Klinik
Innenstadt und in der Chirurgischen
Klinik des Krankenhauszweckverbandes
Augsburg

Juni 1984 Dritter Abschnitt des Staatsexamens

12.06.1984 Erteilung der Approbation

